VEHICLE - WARHEAD - KONZEPT ZUR AUFNAHME NATÜRLICHER UND SYNTHETISCHER HEMMSTOFFE

DISSERTATION

zur Erlangung des Grades eines Doktors
der Naturwissenschaften
der Fakultät für Biologie
der Eberhard-Karls-Universität Tübingen

vorgelegt von
MICHAEL DORGERLOH
aus Dresden

1980

VEHICLE - WARHEAD - KONZEPT ZUR AUFNAHME NATÜRLICHER UND SYNTHETISCHER HEMMSTOFFE

DISSERTATION

zur Erlangung des Grades eines Doktors
der Naturwissenschaften
der Fakultät für Biologie
der Eberhard-Karls-Universität Tübingen

vorgelegt von
MICHAEL DORGERLOH
aus Dresden

1980

UNIV.
LEIDEN
BIBL.

Tag der mündlichen Prüfung: 27.März 1980
Dekan: Prof.Dr.W.Seyffert
1.Berichterstatter: Prof.Dr.H.Zähner
2.Berichterstatter: Prof.Dr.V.Braun

Gesamtherstellung: **aku** - Fotodruck GmbH, 8600 Bamberg

Meinen Eltern gewidmet

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41548921_0086

Die vorliegende Arbeit wurde auf Anregung und unter Anleitung von Herrn Prof. Dr. H. Zähner am Institut für Biologie II, Lehrbereich Mikrobiologie I, der Universität Tübingen ausgeführt. Für sein stetiges Interesse und die großzügige Unterstützung danke ich Herrn Prof. Dr. H. Zähner.

Den Arbeitsgruppen von Prof. Dr. H.G. Floss, Purdue Universität, und von Prof. Dr. S.I. Sallay, Indiana Universität, danke ich ebenso für die gute Zusammenarbeit und die Synthesen verschiedener Hemmstoffe wie den Arbeitsgruppen von Prof. Dr. W. Keller-Schierlein, ETH Zürich, und von Prof. Dr. G. Jung, Universität Tübingen.

Herrn Dr. J. Siebers vom Organisch-Chemischen Institut der Universität Göttingen danke ich für die Untersuchungen zur Strukturaufklärung.

Allen Mitarbeitern der Lehrbereiche Mikrobiologie I und II des Instituts für Biologie II der Universität Tübingen gilt mein Dank für die gute Zusammenarbeit.

Im Text werden folgende Abkürzungen verwendet:

AS	Aminosäure
ASA	Automatische Aminosäureanalyse
ATCC	American Type Culture Collection, Rockville, Md., U.S.A.
DC	Dünnschichtchromatografie
DON	6-Diazo-5-oxo-L-norleucin
DP	Dipeptid
dpt	Dipeptidtransportsystem
EDTA	Äthylendinitrilotetraessigsäure
ETH	Eidgenössische Technische Hochschule, Zürich, Schweiz
IKT	Inkubationstemperatur
IKZ	Inkubationszeit
IR	Infrarot
LDH	Lactatdehydrogenase
LM	Laufmittel
MHK	Minimale hemmende Konzentration
MSI	L-Methionin-S-sulfoximin
NAD^+	Nicotinamidadenindinucleotid, oxidiert
NADH	Nicotinamidadenindinucleotid, reduziert
NCYC	National Collection of Yeast Culture, London, GB
OD	Optische Dichte
opt	Oligopeptidtransportsystem
PALP	Pyridoxal-5'-phosphat
PMS	L-(N^5-Phosphono)-methionin-S-sulfoximin
PTC	Phosphinothricin
R_f	Ratio of frontiers
rpm	Umdrehungen pro Minute
RT	Raumtemperatur
SP	Syntheseprodukt
TP	Tripeptid
Tü	Stammsammlung des Lehrbereichs Mikrobiologie I der Universität Tübingen
UV	Ultraviolett
v/v	Verhältnis von Volumenteilen
wt	Wildtyp

Für Aminosäuren wurden die geläufigen Standardabkürzungen verwendet, die L-Konfiguration wurde nicht gesondert angegeben.

I N H A L T S V E R Z E I C H N I S

		Seite
1.	EINLEITUNG	1
1.1.	Suche nach natürlich vorkommenden Hemmstoffen	1
1.2.	Synthese von Hemmstoffen	2
1.3.	Aufnahme von Hemmstoffen über Peptidtransportsysteme	3
1.4.	Aufnahme von Hemmstoffen über das Polyamintransportsystem	5
1.5.	Hemmstoffe natürlich vorkommender Aminosäuren	6
2.	MATERIAL UND METHODEN	7
2.1.	Chemikalien, Enzyme und Hemmstoffe	7
2.1.1.	Chemikalien für Nährmedien und Aufarbeitung	8
2.1.2.	Chemikalien und Enzyme für Versuche zur Wirkungsweise	9
2.1.3.	Antibiotika	9
2.1.4.	Synthetische Hemmstoffe	10
2.2.	Nährmedien und Puffer	12
2.2.1.	Fermentationsmedien	12
2.2.2.	Medien für Teststämme	12
2.2.3.	Puffer	14
2.3.	Organismen	15
2.3.1.	Produzentenstämme Tü 97 und Tü 1606	15
2.3.2.	Teststämme	15
2.4.	Gewinnung transportdefekter Mutanten	16
2.4.1.	Mutagenese	16
2.4.2.	Isolation	17
2.4.3.	Charakterisierung	17
2.5.	Antibiotikum aus Tü 97	19
2.5.1.	Fermentation in 100 ml-Submerskulturen	19
2.5.2.	Fermentation im 10 l-Maßstab	20
2.5.3.	Fermentationsanalysen	20
2.5.4.	Isolierung und Reinigung des Antibiotikums	21
2.6.	Antibiotikum aus Tü 1606	22
2.6.1.	Fermentation in 100 ml-Submerskulturen	22

		Seite
2.6.2.	Fermentation im 10 l-Maßstab	22
2.6.3.	Fermentationsanalysen	23
2.6.4.	Isolierung und Reinigung des Antibiotikums	23
2.7.	Methoden zur biologischen Charakterisierung	24
2.7.1.	in vivo-Tests	24
2.7.1.1.	Plattendiffusionstest	24
2.7.1.2.	Verdünnungsreihentest	25
2.7.1.3.	Antagonismus- und Synergismustest	25
2.7.1.4.	Untersuchungen im Biophotometer	25
2.7.1.5.	Bioautografie	26
2.7.2.	in vitro-Test	26
2.7.2.1.	Isolation der Threonindesaminase	26
2.7.2.2.	Enzymatische Tests	27
2.8.	Methoden zur physikalischen und chemischen Charakterisierung	28
2.8.1.	Dünnschichtchromatografiesysteme	28
2.8.2.	Methoden zur Identifizierung	29
2.8.3.	Stabilitätsversuche und Löslichkeit	29
2.8.4.	Spektren	30
3.	ERGEBNISSE	31
3.1.	Antibiotikum aus Tü 97	31
3.1.1.	Fermentationen	31
3.1.2.	Isolierung und Reinigung des Antibiotikums	32
3.1.3.	Biologische Charakterisierung	33
3.1.3.1.	Wirkungsspektrum	33
3.1.3.2.	Antagonismustests	33
3.1.3.3.	Versuche im Biophotometer	35
3.1.3.4.	Wirkung auf transportdefekte Mutanten	37
3.1.4.	Physikalische und chemische Charakterisierung	38
3.1.4.1.	Löslichkeit und Stabilität	38
3.1.4.2.	Dünnschichtchromatografie und Identifizierung	38
3.1.4.3.	Strukturvorschläge	39
3.2.	Antibiotikum aus Tü 1606	40
3.2.1.	Fermentationen	40
3.2.2.	Isolierung und Reinigung des Antibiotikums	41
3.2.3.	Biologische Charakterisierung	42

		Seite
3.2.3.1.	Wirkungsspektrum	42
3.2.3.2.	Antagonismustests	44
3.2.3.3.	Versuche im Biophotometer	44
3.2.3.4.	Wirkung auf transportdefekte Mutanten	44
3.2.4.	Physikalische und chemische Charakterisierung	46
3.2.4.1.	Löslichkeit und Stabilität	46
3.2.4.2.	Dünnschichtchromatografie und Identifizierung	46
3.2.4.3.	Strukturvorschläge	47
3.3.	Untersuchung von Ala-ala-(O-carbamyl)-D-ser	48
3.4.	Untersuchung von synthetischen Isoleucin-antagonisten	49
3.4.1.	Wirkungsspektrum	52
3.4.2.	Antagonismus- und Synergismustests	54
3.4.3.	Versuche im Biophotometer	55
3.4.4.	Wirkung auf transportdefekte Mutanten	57
3.4.5.	Versuche mit der Threonindesaminase	61
3.5.	Untersuchungen zum Transport von Dipeptid-hemmstoffen	64
3.6.	Untersuchungen an p-Aminobenzoesäure-antagonisten	69
4.	DISKUSSION	72
4.1.	Antibiotika aus Tü 97 und Tü 1606	72
4.2.	Synthetische Hemmstoffe	75
4.3.	Aufnahme von Hemmstoffen über Peptidtransport-systeme	81
4.4.	Entwicklung neuer Hemmstoffe nach dem vehicle-warhead-Konzept	83
5.	ZUSAMMENFASSUNG	86
6.	LITERATURVERZEICHNIS	88
7.	ANHANG	
	Hemmstoffe natürlich vorkommender Aminosäuren	105
7.1.	Alanin	105
7.2.	D-Alanin	106
7.3.	Arginin	110

		Seite
7.4.	Asparaginsäure	113
7.5.	Asparagin	116
7.6.	Cystein	117
7.7.	Diaminopimelinsäure	117
7.8.	Glutaminsäure	119
7.9.	Glutamin	121
7.10.	Glycin	129
7.11.	Histidin	130
7.12.	Isoleucin	134
7.13.	Leucin	140
7.14.	Lysin	146
7.15.	Methionin	148
7.16.	Ornithin	151
7.17.	Phenylalanin	152
7.18.	Prolin	160
7.19.	Serin	161
7.20.	Threonin	162
7.21.	Tryptophan	164
7.22.	Tyrosin	168
7.23.	Valin	170

1. EINLEITUNG

1.1. Suche nach natürlich vorkommenden Hemmstoffen

Mehrere Jahrzehnte suchte man erfolgreich natürlich vorkommende Hemmstoffe des Aminosäurestoffwechsels. Produzenten dieser sogenannten biogenen Aminosäureantagonisten sind vor allem unter den Actinomycetales, Eubacteriales, Pseudomonadales, Deuteromycetes, Ascomycetes, Basidiomycetes und höheren Pflanzen zu finden (vgl. Anhang). Diese Hemmstoffe wurden neben dem Screening mit Enzymtests und Gewebekulturen vorrangig mit Mikroorganismen gefunden. Dafür machte sich jedoch der Einsatz besonderer Techniken notwendig. Bewährt haben sich der Kreuztest (Zähner et al., 1960), die Antagonismusmethode (Schabel & Pittillo, 1961), die Gegendiffusionsmethode (Staphley et al., 1968) und die Medienmethode (Hanka, 1960; 1979a). Durch eine Kombination des Kreuztests mit der Antagonismusmethode und die Hinzunahme von peptidtransportdefekten Mutanten von Escherichia coli K-12 wurde das Screening speziell auf Hemmstoffe mit Peptidcharakter ausgerichtet. Diese Hemmstoffe, die die Anforderungen des vehicle-warhead-Konzepts ("illicit transport"; "smuggling concept") (Ames et al., 1973; Fickel & Gilvarg, 1973; Matthews & Payne, 1975) erfüllen, zeichnen sich, im Vergleich zu den Hemmstoffen allein, oft durch ein erweitertes biologisches Wirkungsspektrum und niedrigere minimale Hemmkonzentrationen aus. Zwei Beispiele seien an dieser Stelle genannt:

Anticapsin, ein Hemmstoff der Glucosaminsynthetase (Kenig et al., 1976) aus Streptomyces griseoplanus (Shah et al., 1970), zeigt gegen Escherichia coli und Candida albicans nur eine schwache antibiotische Aktivität (Kenig & Abraham, 1976). Bacilysin, aus Ala (vehicle) und Anticapsin (warhead) bestehend, ist nach seiner enzymatischen Hydrolyse ebenfalls ein Hemmstoff der Glucosaminsynthetase (Kenig et al., 1976). Als Naturstoff aus Bacillus subtilis (Rogers et al., 1965) und Bacillus pumilus (Kamiński & Sokołowska, 1973) isoliert, zeigt Bacilysin bei

Escherichia coli eine etwa um den Faktor 1000 niedrigere MHK als die äquimolare Menge an Anticapsin (Kenig et al., 1976).

Amiclenomycin ist ein natürlicher Hemmstoff aus Streptomyces lavendulae subsp. amiclenomycini, dessen toxische Wirkung durch Biotin aufgehoben werden kann (Okami et al., 1974). Seine biologische Aktivität ist ausschließlich auf Mycobakterien begrenzt. Stravidin (MSD-235 S_3), aus Ile (vehicle) und Amiclenomycin (warhead) bestehend, ist ein Biotinantagonist aus Streptomyces avidinii und aus Streptomyces lavendulae, der ein breiteres biologisches Wirkungsspektrum auch gegen gramnegative Bakterien aufweist (Staphley et al., 1964). Auch wenn zur Aufnahme von Amiclenomycin und Stravidin noch keine Untersuchungsergebnisse vorliegen, so kann man doch eine Analogie zum Anticapsin bzw. Bacilysin erwarten.

Das im Screening aus Tü 1606 isolierte Antibiotikum wurde unter diesen Gesichtspunkten ebenso untersucht, wie eine schon früher gefundene antibiotisch aktive Verbindung aus Tü 97 (Möller, 1971).

1.2. Synthese von Hemmstoffen

Um die Möglichkeiten für einen chemotherapeutischen Einsatz von Antimetaboliten optimal auszuschöpfen, sollten nach dem vehicle-warhead-Konzept weitere Hemmstoffe gezielt synthetisiert werden (Fickel & Gilvarg, 1973; Payne, 1976). Die bisherigen Ergebnisse mit Alaphosphin und ca. 300 anderen Peptidderivaten sind vielversprechend (Allen et al., 1979; Atherton et al., 1979a; 1979b). Diese maßgeschneiderte Derivatisierung von Hemmstoffen dürfte auch ökonomischer sein als die ungezielte Suche nach Naturstoffen. So sind Azaserin, DON und Azotomycin (vgl. Anhang) als biogene Glutaminantagonisten zwar potentielle Chemotherapeutika im Antitumorprogramm (Hanka, 1979b), fallen jedoch durch die Hemmung verschiedener Enzyme (Carbamylphosphatsynthetase, FGA-Ribonucleotidsynthetase, 5-PRPP-Amidotransferase,

CTP-Synthetase, Asparaginsynthetase, GMP-Synthetase und NAD-Synthetase) und damit durch zu viele unspezifische metabolische Effekte heraus (Meister & Griffith, 1979). Für einen chemotherapeutischen Einsatz erscheinen nur Einenzym-Wirkort-Substanzen hoffnungsvoll, so beispielsweise Methioninsulfoximinderivate (Griffith et al., 1979). Eine selektive Wirkung erreicht man bei der Verwendung von Hemmstoffen mit bakterien- oder pilzspezifischen Wirkorten. Benutzt man dazu noch einen Antagonisten, von dem ein Einbau ins Protein der Versuchstiere nicht beobachtet wurde, so ist eine geringe Toxizität des peptidartigen Hemmstoffs in der Chemotherapie zu erwarten.

Wir wählten deshalb aus dem umfangreichen Angebot der Aminosäureantagonisten (vgl. Anhang) zwei Hemmstoffe aus, die diese Anforderungen eventuell erfüllen. O-Carbamyl-D-serin wirkt bakterienspezifisch auf die Alaninracemase (Lynch & Neuhaus, 1966) und 3-Cyclohexenylglycin ist ein Hemmstoff der Threonindesaminase (Keller-Schierlein et al., 1969), die in Säugetieren nicht mehr vorkommt.

1.3. Aufnahme von Hemmstoffen über Peptidtransportsysteme

Während die äußere Membran gramnegativer Bakterien durch ihren Gehalt an wassergefüllten Porenproteinen für Aminosäuren und kleine Peptide noch weitestgehend eine passive Diffusion gestattet (Braun, 1977), stellt die cytoplasmatische Membran für diese Substanzklassen eine Barriere dar. Um dennoch Aminosäuren und Peptide nutzen zu können, existieren in Mikroorganismen spezifische und generelle Transportsysteme für diese Substrate (Kay, 1971; Weiner & Heppel, 1971; Guardiola et al., 1973; Rosen, 1973). Mit solchen Transportsystemen können Aminosäuren und Peptide unter Energieverbrauch (Kaback & Stadtman, 1968) im Zellinnern aktiv akkumuliert werden. Damit die Zellen auch Peptide verwerten können, müssen diese Substrate hydrolysiert werden. Mikroorganismen bedienen sich dabei verschiedener Peptidasen. Extrazelluläre Peptidasen findet man bei Aeromonas-,

Arthrobacter- und Bacillusarten sowie bei Neurospora crassa (Ray & Wagner, 1972; Wolfinbarger & Marzluf, 1975; Cascieri & Mallette, 1976), nicht dagegen bei Escherichia coli und Salmonella. Periplasmatische Peptidasen sind bei Escherichia coli von Lazdunski et al. (1975a; 1975b) und membrangebundene Peptidasen bei Mycoplasma laidlawii und Bacillus stearothermophilus (Roncari & Zuber, 1969; Pecht et al., 1972) gefunden worden. Intrazelluläre Peptidasen wurden bisher bei Escherichia coli, Salmonella typhimurium, Pseudomonasarten, Streptococcus pneumoniae, Saccharomyces cerevisiae und Neurospora crassa beschrieben (Yaron & Mlynar, 1968; Sussman & Gilvarg, 1971; Yaron et al., 1972; Becker et al., 1973; Miller & MacKinnon, 1974; Naider et al., 1974; Wolfinbarger & Marzluf, 1976).
Ähnlich wie bei der Verbreitung von Peptidasen, so ist auch bei der Frage nach dem Vorkommen von Peptidtransportsystemen Escherichia coli bevorzugtes Untersuchungsobjekt (Payne & Gilvarg, 1978), während grampositive Bakterien, Pilze und Hefen kaum untersucht sind.

Wir kennen bisher nur sehr wenige Antworten auf die Frage, wie hydrophile Antibiotika die cytoplasmatische Membran überwinden (Ames & Roth, 1968; DeZeeuw, 1968; Hutchings, 1969; Zimmermann & Knüsel, 1969; Wargel et al., 1971; Komatsu & Tanaka, 1972; Kahan et al., 1974; Knüsel & Zimmermann, 1975; Brennenstuhl, 1976; Kenig et al., 1976; Höltje, 1978). Trotz umfangreicher Studien des Peptidtransports in Escherichia coli blieb die Frage offen, ob und auf welchem Weg kleine Peptidantibiotika die cytoplasmatische Membran passieren.
Die Tübinger Arbeitsgruppe konnte zeigen, daß Tripeptidantibiotika bei Escherichia coli K-12 via opt in die Zelle gelangen (Diddens et al., 1976). Es schien deshalb sinnvoll, ähnliche Studien zur Aufnahme von Hemmstoffen auf Dipeptidbasis durchzuführen. Damit kann ein weiterer Beitrag zur Verbreitung von Peptidtransportsystemen in Mikroorganismen geleistet werden. Durch transportdefekte Mutanten von Escherichia coli K-12 und Bacillus subtilis ist die Frage nach separaten Transportsystemen für Oligopeptide und Dipeptide mit neuen Antworten zu bele-

gen. Letztendlich sollen die Studien weitere Aufschlüsse über den Mißbrauch dieser Aufnahmesysteme durch Hemmstoffe nach dem vehicle-warhead-Konzept geben.

1.4. Aufnahme von Hemmstoffen über das Polyamintransportsystem

Polyamine (Spermin, Spermidin, Putrescin) werden von Escherichia coli neben einer energieunabhängigen Adsorption auch über ein energieabhängiges Transportsystem aufgenommen (Tabor & Tabor, 1966; Munro et al., 1974). Der Transportmißbrauch und die Induzierbarkeit des Polyamintransportsystems durch verschiedene Aminoglycosidantibiotika wurde von Höltje (1978; 1979a; 1979b) eingehend untersucht.
Diese Ergebnisse über die unzulängliche Substratspezifität des Transportsystems ließen es sinnvoll erscheinen, Untersuchungen über einen weiteren Mißbrauch dieses Transportsystems nach dem vehicle-warhead-Konzept anzustellen. Polyamine als Vehikel für andere Hemmstoffe wurden diskutiert (Ellestad et al., 1978; Höltje, 1979c).

Für erste Untersuchungen schienen Sulfonamide geeignet, die als strukturelle Antagonisten der p-Aminobenzoesäure agieren (Anand, 1975). p-Aminobenzoesäure ist ein Bestandteil des Coenzyms Tetrahydrofolsäure und wird von den meisten Bakterien aus einfachen Bausteinen synthetisiert. Der Einbau der Sulfonamide in die Folsäure führt zu unwirksamen Coenzymen und somit zur Bakteriostase (Brown, 1962). Der tierische Organismus benötigt das fertige Coenzym als essentiellen Nahrungsbestandteil. Der therapeutische Einsatz erklärt sich daraus, daß diese Hemmstoffe in höheren Organismen keinen empfindlichen Wirkort vorfinden und daß andererseits Folsäure von Bakterien nicht aufgenommen werden kann.

In dieser Arbeit soll untersucht werden, ob verschiedene sulfonamidenthaltende Polyaminderivate nach der Aufnahme in der Bakterienzelle als p-Aminobenzoesäureantagonisten biologisch aktiv sind.

1.5. Hemmstoffe natürlich vorkommender Aminosäuren

In einem Anhang wurde eine Übersicht über die Vielzahl natürlicher und synthetischer Hemmstoffe auf Aminosäure- und Peptidbasis erstellt. Diese Zusammenstellung, die keinen Anspruch auf Vollständigkeit erhebt, soll eine Hilfe für weitere Untersuchungen an Aminosäureantagonisten sein.
Sie gibt eine Übersicht über das breite Spektrum der Quellen solcher Hemmstoffe, über deren Synthese oder nachträgliche Synthese, über das die toxische Wirkung aufhebende Prinzip und über die verwendeten Testsysteme. Weiterhin sollen der Wirkungsmechanismus (sofern bekannt), Hinweise und Literaturkurzzitate die Übersicht abrunden. Es wurden auch trivial erscheinende Antagonismen zwischen verwandten Aminosäuren mit in die Übersicht aufgenommen, um zukünftig in einem möglichst frühen Stadium der Suche nach neuen Aminosäureantagonisten bekannte Hemmstoffe auszuschließen. Als Beispiel sei hier nur der toxische Effekt von Val auf Escherichia coli K-12 genannt (DeFelice et al., 1977; 1979).

2. MATERIAL und METHODEN

2.1. Chemikalien, Enzyme und Hemmstoffe

Sofern hier nicht besonders aufgeführt, kamen analysenreine Substanzen der Firma Merck, Darmstadt, zur Anwendung.

Brenntag GmbH, Mühlheim/Ruhr (1)
Fa. Hedinger, Stuttgart (2)
Difco Laboratories, Detroit, Michigan, U.S.A. (3)
Boehringer Mannheim GmbH, Mannheim (4)
Sigma Chemie GmbH, München (5)
Behringwerke AG, Marburg/Lahn (6)
Serva Feinbiochemica GmbH, Heidelberg (7)
Maizena Diät GmbH, Heilbronn/Neckar (8)
Henselwerke, Magstadt/Stuttgart (9)
Strothmann-Brennereien, Minden (10)
Calbiochem, San Diego, Calif., U.S.A. (11)
Farbwerke Hoechst AG, Frankfurt(M)-Hoechst (12)
BDH Chemicals Ltd, Poole, GB (13)
Arbeitsgruppe Prof. Dr. W. Keller-Schierlein, Laboratorium für organische Chemie, Eidgenössische Technische Hochschule, Zürich, Schweiz (14)
Dr. Hennes, Hoffmann-La Roche AG, Grenzach-Wyhlen (15)
Arbeitsgruppe Prof. Dr. G. Jung, Institut für Organische Chemie, Universität Tübingen (16)
Dr. E.P. Abraham, Sir William Dunn School of Pathology, Oxford, GB (17)
Dr. A. Stempel, Hoffmann-La Roche Inc., Nutley, U.S.A. (18)
Dr. A. Hirota, Department of Agricultural Chemistry, College of Agriculture, University of Osaka Prefecture, Osaka, Japan (19)
Arbeitsgruppe Prof. Dr. H.G. Floss, Department of Medical Chemistry, School of Pharmacy, Purdue University, West Lafayette, Indiana, U.S.A., und Arbeitsgruppe Prof. Dr. S.I. Sallay, Department of Medical Chemistry, Indiana University, Fort Wayne, Indiana, U.S.A. (20)

Miles-Yeda Ltd, Kiryat Weizmann, Rehovoth, Israel (21)
Pharmacia Fine Chemicals AB, Uppsala, Schweden (22)
E. Merck AG, Darmstadt (23)
Bio-Rad Laboratories GmbH, München (24)

2.1.1. Chemikalien für Nährmedien und Aufarbeitung

Aluminiumoxid, Alcoa 305 (7)
Anionenaustauscher Dowex 1 X 8; 50-100 mesh; OH^--Form (7)
Bacto-Agar (3)
Bio-Gel P-2; 200-400 mesh (24)
Casamino acids, vitamin free (3)
DC-Alufolien Cellulose F_{254}; 20 x 20 cm; 0,1 mm dick (23)
DC-Alufolien Kieselgel 60 F_{254}; 20 x 20 cm; 0,2 mm dick (23)
DC-Alufolien Kieselgel 60/ Kieselgur F_{254}; 20 x 20 cm; 0,2 mm dick (23)
D-Glucose (Dextrose, Traubenzucker) (8)
Distiller soluble (10)
Fertigplatten für PSC, KG 60 F_{254}; 20 x 20 cm; 2 mm dick (23)
Hefeextrakt (3)
Hyphlo-Supercel (Celit) (2)
Kationenaustauscher Dowex 50 W X 4; 50-100 mesh; H^+-Form (7)
Kationenaustauscher Dowex 50 W X 8; 50-100 mesh; H^+-Form (7)
Kieselgel 60 für Säulenchromatografie, Korngröße 0,04-0,063 mm (230-400 ASTM) (3)
Malzextrakt (3)
Niax Polyol LHT 67 (1)
Sephadex G-10 (22)
Sephadex G-15 (22)
Sephadex LH-20 (22)
Sojamehl, vollfett (9)
Yeast Nitrogen Base (Nitrogenbase) (3)

2.1.2. Chemikalien und Enzyme für Versuche zur Wirkungsweise

Ala-ala	(7)	Gly-leu	(13)
Ala-ala-ala	(5)	Lactatdehydrogenase (Kaninchenmuskel)	(4)
Ala-ala-ala-ala	(5)	Lys-lys-lys	(5)
Ala-ala-ala-ala-ala	(5)	Met-met	(7)
Ala-ala-D-ala	(7)	Met-met-met	(7)
Ala-D-ala	(7)	Nicotinamidadenindinucleotid (reduziert, Dinatriumsalz)	(4)
Ala-D-ala-ala	(7)	Phe-phe-phe-phe	(7)
Ala-gly	(7)	Putrescin-dihydrochlorid	(11)
Ala-ser	(7)	Pyridoxal-5'-phosphat	(5)
Albumin, kristallin (Rinderserum)	(6)	Ser-ala	(7)
ß-Ala-ala	(7)	Spermidin-trihydrochlorid	(11)
D-Ala-ala	(7)	Spermin-tetrahydrochlorid	(11)
D-Ala-D-ala	(7)	Thr	(5)
D-Ala-D-ala-D-ala	(7)	Tyr-tyr	(7)
Gly-ala	(7)	Tyr-tyr-tyr	(21)
Gly-gly	(5)	Val-ala	(7)
Gly-gly-ala	(5)		
Gly-gly-gly	(5)		

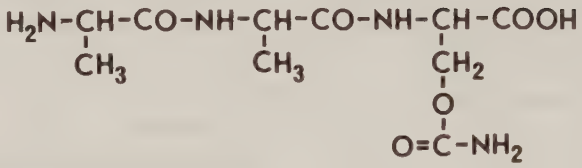
2.1.3. Antibiotika

Ala-3(α-chlor-3-hydroxy-2-oxo-3-azetidinylmethyl)-ala (Ro 7-7962)	(18)
Bacilysin (65 % rein)	(17)
1-Hydroxy-2-valylamidocyclobutan-1-essigsäure (Ro 20-8356)	(18)
(N^5-Phosphono)-methioninsulfoximinyl-ala-ala	(18)
Plumbemycin B	(19)
Streptomycin-sulfat	(12)

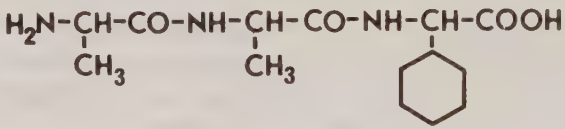
Alle weiteren hier nicht gesondert genannten Antibiotika entstammen der Antibiotikasammlung des Lehrbereichs Mikrobiologie I der Universität Tübingen.

2.1.4. Synthetische Hemmstoffe

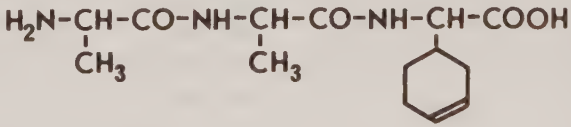
Ala-ala-(O-carbamyl)-D-ser (16)



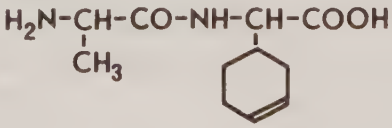
Ala-ala-(D,L)-cyclohexylglycin (20)



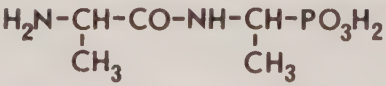
Ala-ala-3-cyclohexenylglycin und Ala-ala-(D,L)-3-cyclohexenylglycin (20)



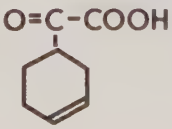
Ala-(D,L)-3-cyclohexenylglycin (20)



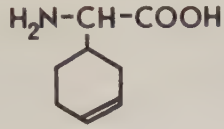
Alaphosphin (Ro 03-7008) (15)



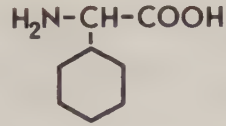
3-Cyclohexenylglyoxylsäure (Ketomycin) (20)



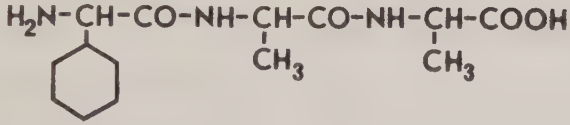
3-Cyclohexenylglycin und (D,L)-3-Cyclohexenylglycin (20)



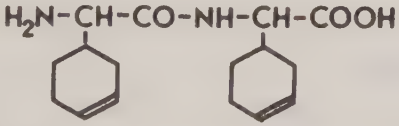
(D,L)-Cyclohexylglycin (16)



(D,L)-Cyclohexylglycyl-ala-ala (16)

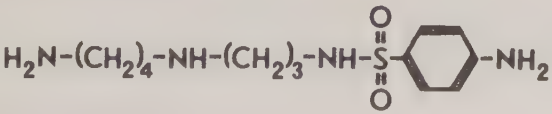


Di-(D,L)-3-cyclohexenylglycin (20)

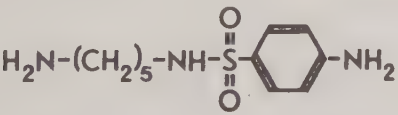


Orn-orn-orn (16)

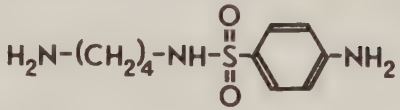
Syntheseprodukt I (SP I) (14)



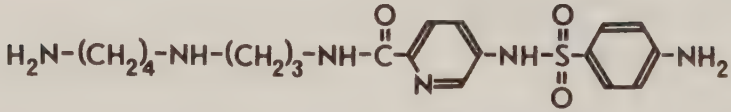
Syntheseprodukt II (SP II) (14)



Syntheseprodukt III (SP III) (14)



Syntheseprodukt IV (SP IV) (14)



2.2. Nährmedien und Puffer

Alle Medien für Submerskulturen und Stammhaltung wurden 20 min bei 121°C im Autoklaven sterilisiert, Fermentationsmedien (10 l-Maßstab) dagegen 30 min bei 134°C.

2.2.1. Fermentationsmedien

Produktionsmedium für Tü 97, PM 97

20 g Sojamehl; mit Leitungswasser ad 1000 ml.

Produktionsmedium für Tü 1606, PM 1606

20 g Malzextrakt; 20 g Distiller soluble; 5 g NaCl; 1 g $NaNO_3$; mit Leitungswasser ad 1000 ml; pH 7,5.

2.2.2. Medien für Teststämme

Minimalmedium (verändert nach Davis & Mingioli, 1950), DM

4 g D-Glucose (getrennt sterilisieren); 3 g KH_2PO_4; 7 g K_2HPO_4; 0,5 g tri-Na-Citrat x 2 H_2O; 0,1 g $MgSO_4$ x 7 H_2O; 1 g $(NH_4)_2SO_4$; mit entionisiertem Wasser ad 1000 ml.

Minimalmedium mit Vitaminzusätzen, SA

4 g D-Glucose (getrennt sterilisieren); 3 g KH_2PO_4; 7 g K_2HPO_4; 0,5 g tri-Na-Citrat x 2 H_2O; 0,1 g $MgSO_4$ x 7 H_2O; 1 g $(NH_4)_2SO_4$; 1 g Casein-Hydrolysat (Casamino acids, vitamin free); 0,05 g Thiaminiumdichlorid; 0,05 g Nicotinsäure; mit entionisiertem Wasser ad 1000 ml.

Minimalmedium (verändert nach Eikhom et al., 1963), BM

13,6 g K_2HPO_4; 2 g $(NH_4)_2SO_4$; 10 mg $CaCl_2$; 0,2 g $MgSO_4$ x 7 H_2O; 0,5 mg $FeSO_4$ x 7 H_2O; 5 g Na-Glutamat; 0,34 mg Thiaminiumdichlorid; 0,038 mg Riboflavin; 0,48 mg Ca-Pantothenat; 0,19 mg Pyridoxalhydrochlorid; 0,24 mg Nicotinsäureamid; 0,44 mg Folsäure; 0,24 mg Biotin; 0,01 mg Cyanocobalamin; mit entionisiertem Wasser ad 1000 ml; pH 7,2 (H_2SO_4).

Minimalmedium (verändert nach Kenig & Abraham, 1976), CA

2 g D-Glucose (getrennt sterilisieren); 1 g KH_2PO_4; 0,2 g $MgSO_4$ x 7 H_2O; 1,5 g Na-Glutamat; 2,5 mg Biotin; mit entionisiertem Wasser ad 1000 ml.

Malzagar, MA

20 g Malzextrakt; 20 g Bacto-Agar; mit Leitungswasser ad 1000 ml; pH 6,0.

Stammhaltungsmedium (verändert nach Pridham et al., 1956), HM

4 g Hefeextrakt; 10 g Malzextrakt; 4 g D-Glucose; 20 g Bacto-Agar; mit Leitungswasser ad 1000 ml; pH 7,3.

Minimalmedium für Hefen, SM

20 g D-Glucose; 5 g $(NH_4)_2SO_4$; 1,7 g Nitrogenbase (ohne AS und ohne $(NH_4)_2SO_4$); mit entionisiertem Wasser ad 1000 ml.

Induktionsmedium für Hefen (verändert nach Nisbet & Payne, 1979b; Becker & Naider, 1977), SI

20 g D-Glucose; 2 g Prolin; 1,7 g Nitrogenbase (ohne AS und ohne $(NH_4)_2SO_4$); mit entionisiertem Wasser ad 1000 ml.

Falls nicht gesondert vermerkt, wurde den Medien zur Herstellung fester Nährböden 1,5 % Bacto-Agar vor der Sterilisation zugesetzt.
Vitaminlösungen wurden sterilfiltriert.
Zur besseren Auswertung kann man den festen Nährböden mit Escherichia coli zum Zeitpunkt der Zugabe der Bakteriensuspension 0,2 g/l des Wachstumsindikators 2,3,5-Triphenyltetrazoliumchlorid (gelöst in Äthanol) zusetzen.

2.2.3. Puffer

Puffer A (Waschlösung)

8 g NaCl; 1 g $MgSO_4$ x 7 H_2O; mit entionisiertem Wasser ad 1000 ml.

Puffer B (Phosphatpuffer zur Aufnahme des Rohextraktes für die enzymatischen Tests)

50 mM KH_2PO_4; 1 mM Titriplex II (EDTA); 5 mM Mercaptoäthanol; 1 mM PALP; pH 7,6 (4 N KOH).

Puffer C (für enzymatische Tests)

100 mM Triäthanolamin; pH 7,9 (0,1 N HCl).

Puffer D (Elutionspuffer für Kationenaustauscher; 0,5 N Pyridin-Acetat-Puffer; pH 2,0 bis 2,8)

28 ml Eisessig; mit entionisiertem Wasser ad 1000 ml; pH 2,0 bis 2,8 (Pyridin, konz.).

Puffer E (Elutionspuffer für Anionenaustauscher; 0,2 M Tris-HCl-Puffer; pH 9,0 bis 8,5)

24,23 g Tris(hydroxymethyl)aminomethan; mit entionisiertem Wasser ad 1000 ml; pH 9,0 bis 8,5 (0,1 N HCl).

Puffer F (Elutionspuffer für Kationenaustauscher; 0,2 N Pyridin-Acetat-Puffer; pH 3,25)

11 ml Eisessig; mit entionisiertem Wasser ad 1000 ml; pH 3,25 (Pyridin, konz.).

2.3. Organismen

2.3.1. Produzentenstämme Tü 97 und Tü 1606

Der Stamm Tü 97 entstammt einer Bodenprobe aus Peru und ist in seiner Morphologie bei Möller (1971) beschrieben. Nach dem Artkonzept von Hütter (1967) handelt es sich um

Streptomyces fradiae WAKSMAN et HENRICI (1948).

Zur Stammhaltung dienten Schrägröhrchen mit HM-Agar.

Der Stamm Tü 1606 stammt aus einer in einem Park in Horyn-Ji, Nasa, Japan, gesammelten Bodenprobe. Er wurde nach dem Artkonzept von Hütter (1967) als

Streptomyces violaceoniger (WAKSMAN et CURTIS) WAKSMAN et HENRICI (1948)

identifiziert. Für die Stammhaltung wurden Schrägröhrchen mit HM-Agar verwendet.

2.3.2. Teststämme

Bakterien

Achromobacter geminiani RAVENEL - Institut für Mikrobiologie, Universität Göttingen
Agrobacterium tumefaciens (SMITH et TOWNSEND) CONN - ATCC 11095
Bacillus brevis MIGULA - ATCC 9999
Bacillus subtilis COHN - ATCC 6051
Corynebacterium poinsettiae STARR et PIRONE - ATCC 9682
Corynebacterium spec. LEHMANN et NEUMANN - ATCC 23830
Erwinia amylovora WINSLOW et al. - ATCC 15580
Escherichia coli (MIGULA) CASTELLANI et CHALMERS B - Tü
Escherichia coli (MIGULA) CASTELLANI et CHALMERS K-12 Stamm W 1485 - ATCC 12435
Klebsiella pneumoniae (SCHROETER) TREVSAN - Tü
Micrococcus luteus (SCHROETER) COHN - ATCC 298
Pseudomonas aeruginosa MIGULA - ATCC 10145

Pseudomonas fluorescens MIGULA - ATCC 13525
Pseudomonas lachrymans CARSNER - ATCC 7386
Salmonella typhimurium CASTELLANI et CHALMERS LT 2 - Stanford, U.S.A.
Serratia marcescens BIZIO - ATCC 12435 (Süddeutsche Versuchs- und Forschungsanstalt für Milchwirtschaft, Weihenstephan)
Staphylococcus aureus ROSENBACH - Tü 202

Hefen

Candida albicans (ROBIN) BERKHOUT - NCYC 597
Saccharomyces cerevisiae HANSEN - FL 200
Saccharomyces cerevisiae HANSEN - αS 288 C

Pilze

Botrytis cinerea PERSOON ex FRIES - Tü 157
Mucor hiemalis WEHMER - (+) Tü 179 x (-) Tü 180

2.4. Gewinnung transportdefekter Mutanten

2.4.1. Mutagenese

Durch Spontanmutation unter dem Selektionsdruck verschiedener toxischer Peptide wurden von Bacillus subtilis und Escherichia coli K-12 Mutanten isoliert. Dazu pipettierte man je 0,1 ml Bakteriensuspension (OD_{578}= 1,3) in 10 ml DM-Medium auf Testplatten und legte mit toxischen Peptiden getränkte Filterrondellen auf. Als Peptide kamen zur Anwendung:

PTC-ala-ala; PMS-ala-ala; Plumbemycin B; Orn-orn-orn; Gly-leu; Alaphosphin; Val-ala; Bacilysin; Ala-3-(α-chlor-3-hydroxy-2-oxo-3-azetidinylmethyl)-ala; 1-Hydroxy-2-valylamidocyclobutan-1-essigsäure.

Mutanten vom Typ A (vgl. 2.4.3.) entstanden bei Bacillus subtilis und Escherichia coli K-12 mit PTC-ala-ala in einer Mutationsrate von etwa $1:10^5$. Mit Alaphosphin konnten bei Escherichia coli K-12, ausgehend von der Mutante A, Mutanten vom Typ B

(vgl. 2.4.3.) mit einer Bildungsfrequenz von ebenfalls $1:10^5$ gewonnen werden. Mutanten vom Typ C (vgl. 2.4.3.) entstanden bei Escherichia coli K-12, wenn man das toxische Val-ala verwendete und gleichzeitig das DM-Medium der Testplatten mit 20 mM Ala-ala-ala oder Gly-gly-gly komplettierte (Bildungsfrequenz nicht bestimmt).

2.4.2. Isolation

Aus den Hemmhofregionen konnten nach einer 48-stündigen Inkubation bei $37^{\circ}C$ einzelne gut gewachsene Kolonien abgeimpft werden. Diese Isolate wurden auf einer neuen Petrischale, die das toxische Peptid im DM-Medium enthielt, mit einem Verdünnungsausstrich zur Erzielung von Einzelkolonien (Drews, 1976) weiterbearbeitet. Die Stammhaltung der Isolate erfolgte dann auf Schrägröhrchen mit HM-Medium.

2.4.3. Charakterisierung

Die Mutanten zeichneten sich durch unterschiedliches Verhalten gegen toxische Peptide aus. Unser Ziel war es, transportdefekte Mutanten zu isolieren. Payne (1968), Payne & Gilvarg (1971), DeFelice et al. (1973) und Barak & Gilvarg (1974) berichteten über die Existenz unterschiedlicher Transportsysteme für Dipeptide (dpt) und für Oligopeptide (opt) bei Escherichia coli K-12. Payne & Gilvarg (1978) haben die strukturellen Anforderungen, die opt und dpt an ihre Substrate stellen, zusammengefaßt. Danach ist PTC-ala-ala zur Isolation einer opt^--Mutante und Alaphosphin bzw. Val-ala zur Isolation einer dpt^--Mutante geeignet. Problematisch wirken sich jedoch Überlappungen im Eintransport aus. Nach DeFelice et al. (1973) können toxische Dipeptide auch via opt in die Zelle gelangen und die Isolation einer ausschließlich in der dpt defekten Mutante dürfte auf diesem Wege sehr schwierig sein.

Bei der Charakterisierung der Mutation müssen verschiedene mögliche Veränderungen beachtet werden:

a) Transportdefekt in dpt bzw. opt
b) Wirkortresistenz
c) veränderte intra- bzw. extrazelluläre Peptidaseaktivität
d) Modifizierung des toxischen Peptids zu einer nichttoxischen Verbindung
e) Konstitutive Bildung der Biosyntheseenzyme durch Mutation im Regulator- oder Operator-Gen
f) Konstitutive Bildung des Endproduktes nach Verlust der allosterischen Hemmung durch den Metaboliten bzw. den Antimetaboliten.

Eine von Escherichia coli K-12 mit PTC-ala-ala isolierte Mutante zeigte volle Kreuzresistenz zu anderen Tripeptidantibiotika (PMS-ala-ala; Plumbemycin B) und war resistent gegen Orn-orn-orn (Gilvarg & Levin, 1972; Barak et al., 1973). Diese Mutante zeigte phänotypisch die gleichen Eigenschaften wie die von Diddens et al. (1976) isolierte opt^--Mutante und war sensitiv gegen alle toxischen Dipeptide. Sie erhielt die Bezeichnung Escherichia coli K-12 Mut. A.

Analog dazu wurde mit PTC-ala-ala bei Bacillus subtilis eine gegen Tripeptidantibiotika kreuzresistente Mutante isoliert, die ebenfalls noch gegen toxische Dipeptide sensitiv war. Sie erhielt die Bezeichnung Bacillus subtilis Mut. A.

Ausgehend von Escherichia coli K-12 Mut. A wurde mit Alaphosphin eine Mutante isoliert, die außerdem gegen alle toxischen Dipeptide kreuzresistent war (Bacilysin; Gly-leu; Val-ala; Ala-3-(α-chlor-3-hydroxy-2-oxo-3-azetidinylmethyl)-ala; 1-Hydroxy-2-valylamidocyclobutan-1-essigsäure). Diese in opt und dpt defekte Mutante erhielt die Bezeichnung Escherichia coli K-12 Mut. B.

Weiterhin wurde von Escherichia coli K-12 eine dpt^--Mutante isoliert. Da sie eine funktionstüchtige opt behalten sollte, mußte die opt während der Mutagenese und der Isolation vor einem

mißbräuchlichen Eintransport von Val-ala mit einer hohen Konzentration eines nichttoxischen Tripeptids (20 mM Ala-ala-ala oder 20 mM Gly-gly-gly) blockiert werden. Beim Wildtyp von Escherichia coli K-12 gelingt es nicht, die toxische Wirkung von Dipeptidantibiotika mit Tripeptiden zu antagonisieren, weil der Eintransport via dpt für eine toxische Wirkung in der Zelle schon ausreichend ist. Die dpt^--Mutante zeigte volle Empfindlichkeit gegen Tripeptid- und Dipeptidantibiotika außer Alaphosphin. Bei dieser Mutante nun konnte die toxische Wirkung aller Dipeptidhemmstoffe durch Ala-ala-ala und Gly-gly-gly antagonisiert werden. Diese ausschließlich in der dpt defekte Mutante erhielt die Bezeichnung Escherichia coli K-12 Mut. C.

Alle vier transportdefekten Mutanten zeigen außer ihrer veränderten Empfindlichkeit gegen toxische Di- und Tripeptide keine phänotypischen Besonderheiten im Vergleich zu den Wildtypen. Die Mutanten sind stabil und wachsen auf Minimal- und Komplettmedien gleich gut. Sie zeigen die gleiche Empfindlichkeit gegen Albomycin, Chloramphenicol, Cycloserin, O-Carbamyl-D-serin, Erythromycin, Ketomycin, Neomycin, Streptomycin, Flavomycin, Phleomycin, Rifampicin, Tetracycline und Viomycin.

2.5. Antibiotikum aus Tü 97

2.5.1. Fermentation in 100 ml-Submerskulturen

Für die Anzucht in Submerskulturen wurden 100 ml Nährlösung (PM 97) mit Streptomyces fradiae beimpft. In diesem Medium (vgl. 2.2.1.) fand sich nach einer Medienoptimierung (unveröffentlicht) die höchste Konzentration an X-97. In 500 ml-Erlenmeyerkolben mit einem seitlichen Einstich wurde auf einer Schüttelmaschine (25 mm Bewegungsradius; 120 rpm; Fa. A. Kühner, Basel, Schweiz) bei 27°C inkubiert. Das Maximum der Antibiotikumkonzentration in der Kulturbrühe korrelierte mit einem bestimmten pH-Wert. Bei pH 7,8 bis 7,9 erreichte die Kultur die höchste Konzentration an Antibiotikum. Je nach Alter des Impfmaterials war dieser Zeitpunkt nach 50 bis 70 h erreicht.

2.5.2. Fermentation im 10 l-Maßstab

In Glasfermentern des Typs FS-314 der Fa. New Brunswick Scientific Co., Inc., New Brunswick, New Jersey, U.S.A., wurden 9 l Nährlösung (PM 97) sterilisiert und anschließend mit 1 l einer 24 h alten Submerskultur (vgl. 2.5.1.) beimpft. Fermentiert wurde mit 220 rpm Rührergeschwindigkeit, 180 l Luft/h und bei 27°C. Auch hier war der Gehalt an Antibiotikum in der Kulturbrühe mit dem Verlauf des pH-Wertes korreliert, so daß sich der günstigste Erntezeitpunkt schnell bestimmen ließ. Im allgemeinen wurde nach einer Fermentationsdauer von 30 bis 40 h geerntet.

2.5.3. Fermentationsanalysen

Der Fermentationsverlauf wurde durch regelmäßige Entnahme von Proben überwacht und folgendermaßen ausgewertet:

a) Der pH-Wert der Kulturbrühe wurde mit einem Labor-pH-Meter gemessen.

b) Nach dem Abzentrifugieren von 10 ml Kulturbrühe unter vergleichbaren Bedingungen (10 min; 3000 rpm) in graduierten Zentrifugengläsern ließ sich der prozentuale Anteil an Sediment in der Kultur ermitteln. Damit erhält man eine grobe Aussage über das Wachstum des Produzentenstammes.

c) Den Gehalt an Antibiotikum in der Kulturbrühe konnte man mittels Plattendiffusionstest (vgl. 2.7.1.1.) und einer mit Reinsubstanz von X-97 erstellten Eichkurve ermitteln. Als Teststamm wurde Escherichia coli K-12 benutzt.

d) Von der Kulturbrühe wurde ein mikroskopisches Präparat hergestellt und bei 1000-facher Vergrößerung die mikrobiologische Reinheit der Kultur geprüft.

2.5.4. Isolierung und Reinigung des Antibiotikums

Abweichend von der bei Möller (1971) beschriebenen Reinigungsprozedur erfolgte die Gewinnung von X-97 auf zwei neuen Wegen:

Weg A

Nach der Ernte wurde die Kulturbrühe auf pH 3,0 (0,5 N HCl) angesäuert und mit 2 % Celit an einer Filterpresse der Fa. Schenk, Filterbau, Schwäbisch Gmünd, oder mit einer Filternutsche und Filterpapier der Fa. Binzer, Hatzfeld/Eder, filtriert. Das Kulturfiltrat wurde 60 min mit Aktivkohle (50 g/l) gerührt, die Kohle abfiltriert und der inaktive wässrige Überstand verworfen. Die Elution des Antibiotikums von der Kohle erfolgte mit Aceton (2 x 1 l/kg). Das wässrige Acetoneluat wurde am Vakuumrotationsverdampfer bis zur Trockne eingeengt. Anschließend konnte man den trocknen Rückstand in Methanol aufnehmen und unlösliche Rückstände (Proteine) abfiltrieren. Die aktive methanolische Lösung wurde nun an einer mit Kieselgel gefüllten Säule mit Methanol chromatografiert und fraktioniert gesammelt. Nachdem die aktiven Fraktionen vereinigt und eingeengt wurden, erfolgte die weitere Reinigung über präparative Dünnschichtchromatografie mit PSC-Fertigplatten. Mit dem Laufmittel A (vgl. 2.8.1.) wurde über 15 h chromatografiert und anschließend die biologisch aktive Zone ausgekratzt und das Kieselgel dreimal mit Methanol extrahiert. Schließlich erfolgte eine weitere Reinigung an einer mit Sephadex LH-20 gefüllten Säule in Methanol.

Weg B

Die Kulturbrühe wurde nach der Ernte auf pH 2,0 (0,5 N HCl) angesäuert und wie in Weg A beschrieben filtriert. Nun wurde die biologische Aktivität an einer mit Kationenaustauscher (Dowex 50 W X 4) gefüllten Säule gebunden und der inaktive Durchlauf verworfen. Nach dem Waschvorgang mit Wasser (pH 2,0) wurde ein linearer Puffergradient (0,5 N Pyridin-Acetat-Puffer; Puffer D) von pH 2,0 bis 2,8 angelegt und fraktioniert eluiert. Die aktiven Fraktionen wurden vereinigt und auf pH 9,0 (0,5 N NaOH) eingestellt und an einer mit Anionenaustauscher (Dowex 1 X 8)

gefüllten Säule gebunden. Durchlauf und Waschwasser (pH 9,0) waren inaktiv. Die biologische Aktivität wurde dann mit einem linearen Puffergradienten (0,2 M Tris-HCl-Puffer; Puffer E) von pH 9,0 bis 8,5 fraktioniert eluiert und anschließend an einer mit Bio-Gel P-2 gefüllten Säule entsalzen. Die aktiven Fraktionen wurden vereinigt, eingeengt und mit präparativer Dünnschichtchromatografie auf PSC-Fertigplatten und dem Laufmittel B (Entwicklungszeit 15 h) einem weiteren Reinigungsschritt unterzogen. Nach dem Auskratzen der biologisch aktiven Zone wurde diese zweimal mit Methanol extrahiert, die Lösung bis zur Trockne eingeengt und der Rückstand in Wasser aufgenommen. Ein letzter Reinigungsschritt erfolgte an einer mit Bio-Gel P-2 gefüllten Säule in Wasser.

Auf beiden Wegen wurde die biologische Aktivität mittels Plattendiffusionstest (vgl. 2.7.1.1.) und dem Teststamm Escherichia coli K-12 verfolgt.

2.6. Antibiotikum aus Tü 1606

2.6.1. Fermentation in 100 ml-Submerskulturen

Mit Streptomyces violaceoniger Tü 1606 wurden 100 ml Nährlösung (PM 1606) beimpft. Diese Kulturen wurden wie unter 2.5.1. beschrieben fermentiert. Im allgemeinen war das Maximum des Antibiotikumgehalts in der Kultur nach etwa 90 h erreicht. Eine strenge Korrelation zum Verlauf des pH-Wertes konnte nicht gefunden werden. Das Medium PM 1606 (vgl. 2.2.1.) erbrachte in einer umfangreichen Medienoptimierung (unveröffentlicht) die höchste Konzentration an X-1606.

2.6.2. Fermentation im 10 l-Maßstab

Glasfermenter des Typs FS-314 (vgl. 2.5.2.) wurden mit 9 l Nährlösung (PM 1606) sterilisiert, mit 1 l einer 24 h alten Vorkultur (vgl. 2.6.1.) beimpft und bei 27°C, 300 l Luft/h und

270 rpm Rührergeschwindigkeit fermentiert. Durch die Zugabe einiger Tropfen einer sterilen äthanolischen Polyollösung konnte man die Schaumbildung während der Fermentation reduzieren. Nach einer Dauer von etwa 40 bis 50 h war die höchste Konzentration des Antibiotikums in der Kultur erreicht.

2.6.3. Fermentationsanalysen

Nach der sterilen Probenentnahme zu verschiedenen Zeiten der Fermentation wurden folgende Parameter ausgewertet:

a) pH-Wert
b) Sediment in der Kultur
c) Gehalt an Antibiotikum (Bacillus subtilis als Teststamm)
d) mikroskopische Reinheit der Kultur

Die Analysen wurden wie unter 2.5.3. beschrieben durchgeführt.

2.6.4. Isolierung und Reinigung des Antibiotikums

Schwebstoffe und biologisch inaktives Mycel wurden mit 2 % Celit abfiltriert (vgl. 2.5.4.) und das Kulturfiltrat auf 1/10 seines Volumens am Vakuumrotationsverdampfer reduziert. Anschließend wurde mit kaltem Methanol wieder auf das Ausgangsvolumen aufgefüllt, der inaktive Niederschlag abfiltriert und das Methanol unter Vakuum wieder entfernt. Nun rührte man das Kulturfiltrat 30 min lang mit Aktivkohle (50 g/l). Danach filtrierte man die Aktivkohle ab. Das jetzt wasserklare biologisch aktive Kulturfiltrat wurde auf pH 2,2 (0,5 N HCl) eingestellt und über eine mit Kationenaustauscher (Dowex 50 W X 8) gefüllte Säule gegeben und der inaktive Durchlauf verworfen. Nach einem Waschprozeß (pH 2,2) eluierte man mit Puffer F (0,2 N Pyridin-Acetat-Puffer; pH 3,25), vereinigte die biologisch aktiven Fraktionen und gab sie mit pH 9,0 (0,5 N NaOH) über eine mit Anionenaustauscher (Dowex 1 X 8) gefüllte Säule. Hierbei kam es zu keiner echten Bindung der biologischen Aktivität an die funktionellen Gruppen des Austauscherharzes; vielmehr wurde das aufgetragene

Material an der Säule nur chromatografiert. Es kam deshalb darauf an, das Auftragvolumen möglichst klein und die Säulenlänge möglichst groß zu gestalten. Das Säuleneluat wurde fraktioniert gesammelt und die biologisch aktiven Fraktionen vereinigt und eingeengt. Schließlich wurden noch zwei Reinigungsschritte mit Sephadex G-10 und Sephadex G-15 (Gelfiltration nach Molekülgrößen in Säulen) durchgeführt und jeweils fraktioniert gesammelt. Die aktiven Fraktionen wurden vereinigt, eingefroren und gefriergetrocknet.
Die biologische Aktivität wurde während der einzelnen Aufarbeitungsschritte mit dem Teststamm Bacillus subtilis im Plattendiffusionstest (vgl. 2.7.1.1.) verfolgt.

2.7. Methoden zur biologischen Charakterisierung

2.7.1. in vivo-Tests

2.7.1.1. Plattendiffusionstest

Der Plattendiffusionstest dient zum qualitativen und quantitativen Nachweis antibiotisch aktiver Substanzen bei verschiedenen Teststämmen. Er wurde nach Zähner & Maas (1972) mit Petrischalen der Fa. Greiner, Nürtingen, durchgeführt. Sofern er nicht als Basis für Antagonismus- und Synergismustests (vgl. 2.7.1.3.) oder für die Bioautografie (vgl. 2.7.1.5.) diente, wurden Filterpapierrondellen (6 mm; Macherey, Nagel & Co., Düren) mit 20 µl einer Lösung des Antibiotikums versetzt, getrocknet und aufgelegt. Nach einer bestimmten Inkubationszeit (IKZ) wurde dann die unbekannte Konzentration der Antibiotikumlösung grafisch bestimmt, indem eine Eichkurve mit bekannten Konzentrationen an Antibiotikum mitgetestet wurde.

2.7.1.2. Verdünnungsreihentest

Dieser Test, modifiziert nach Zähner & Maas (1972), diente der Bestimmung der MHK. Der Hemmstoff wird in einer mit dem Testorganismus beimpften Nährlösung in Verdünnungsstufen 1:2 verdünnt und nach einer 18-stündigen Inkubation bei 37°C die MHK bestimmt. Das Gesamtvolumen des Testansatzes betrug 100 µl; es kamen Microtiterplatten der Fa. Dynatech Produkte AG, Kloten, Schweiz, zur Anwendung. Die Auswertung erfolgte optisch. Als MHK wurde die niedrigste Konzentration an Hemmstoff im Ansatz bestimmt, bei der gerade noch kein Wachstum erfolgte. Als Impfmaterial diente eine 18 h alte Vorkultur, von der mit 1 % angeimpft wurde.

2.7.1.3. Antagonismus- und Synergismustest

Mit diesen Tests lassen sich konzentrationsabhängige und konzentrationsunabhängige gegenseitige Beeinflussungen zweier Substanzen zeigen. Es kann sich dabei um antagonistische bzw. ebenso um synergistische oder additive Effekte handeln. Eine einfache Ausführung, die jedoch nur den Endzustand nach einer mehrstündigen Inkubationsdauer zeigt, stellt der Kreuztest dar. Er wurde wie bei Zähner et al. (1960) beschrieben durchgeführt. Es muß kritisch bemerkt werden, daß der Kreuztest oftmals keine exakte Unterscheidung zwischen kompetitiven und nichtkompetitiven Antagonismen bzw. zwischen additiven und synergistischen Effekten zuläßt. Deshalb diente er in Zweifelsfällen nur als Vororientierung und nachfolgende Untersuchungen im Biophotometer (vgl. 2.7.1.4.) wurden zur eindeutigen Klärung herangezogen.

2.7.1.4. Untersuchungen im Biophotometer

Zur automatischen Registrierung des Einflusses von Hemmstoffen auf verschiedene Wachstumsphasen der Teststämme in Flüssigkultur wurde ein Biophotometer der Fa. Jouan, Paris, Frankreich, verwendet (Poralla, 1967).

Dazu füllte man die Küvetten mit 7 ml einer Bakteriensuspension (OD_{578}= 0,02) und glich am Schreiber des Biophotometers auf eine Transmission von 90 % ab. Die Hemmstoffe gab man zum Zeitpunkt A und die die Hemmung antagonisierenden Substanzen zum Zeitpunkt B zu. Bei gleichbleibender Temperatur und Belüftung wurde über mehrere Stunden kontinuierlich die Transmissionsänderung als Maß für das Wachstum oder für bakteriostatische bzw. bakterizide Effekte registriert.

2.7.1.5. Bioautografie

Cellulose- und Kieselgel-DC-Alufolien wurden nach der Entwicklung (vgl. 2.8.1.) getrocknet und zerschnitten. Die etwa 0,5 cm breiten zerschnittenen Streifen wurden auf vorbereitete Testplatten (vgl. 2.7.1.1.) ausgelegt und inkubiert. Der R_f-Wert des chromatografierten Hemmstoffs ermittelt sich aus der Lage des Hemmhofs.

2.7.2. in vitro-Test

2.7.2.1. Isolation der Threonindesaminase

SM-Medium wurde mit 1 % einer Vorkultur des Hefestamms Saccharomyces cerevisiae αS 288 C angeimpft und bei 120 rpm auf einer rotierenden Schüttelmaschine (Fa. Infors AG, Basel, Schweiz) bei 30°C in 500 ml Erlenmeyerkolben mit einem seitlichen Einstich (100 ml Medium) bis zu einer OD von 7,0 (OD_{578}) fermentiert. Nach Fohmann (1979) befinden sich die Hefezellen zu diesem Zeitpunkt am Ende der logarithmischen Wachstumsphase und die Threonindesaminase besitzt ihre höchste spezifische Aktivität.
Die Zellsuspensionen der Submerskulturen wurden in Zentrifugenbechern geerntet und in einer Hereus-Christ-Zentrifuge (3000 U/min; 0°C; 10 min) abzentrifugiert. Die Sedimente mußten zweimal mit einer kalten Salzlösung (Puffer A) gewaschen werden. Das so erhaltene Sediment wurde in eine gekühlte Reibschale

überführt und darin gewogen. Der mechanische Aufschluß erfolgte bei 0° bis $4^{\circ}C$ mit Aluminiumoxid, das im dreifachen Sedimentgewicht zugegeben wurde, durch Zerreiben über 5 min. Mit Puffer B, der ebenfalls im dreifachen Sedimentgewicht zugegeben wurde, extrahierte man unter weiterem fünfminütigen Reiben die Enzymlösung. In einer Sorvall RC 2-B-Zentrifuge trennt sich die Enzymlösung (37000 g; $0^{\circ}C$; 45 min) von den Zelltrümmern bzw. dem Aluminiumoxid und ist bei $-20^{\circ}C$ über Wochen ohne Aktivitätsverlust haltbar.
Im so erhaltenen Rohenzymextrakt wurde der Proteingehalt nach Lowry et al. (1951) bestimmt. Es ergab sich ein Gehalt von 12 mg/ml (Rinder-Serum-Albumin als Standard).

2.7.2.2. Enzymatische Tests

In Anlehnung an Cennamo et al. (1964) wurde die spezifische Aktivität der Threonindesaminase (E.C. 4.2.1.16) durch Kopplung an eine NADH-abhängige Reaktion bestimmt.

$$\text{L-Threonin} \xrightarrow[\text{Threonindesaminase}]{\text{E.C. 4.2.1.16}} NH_4^+ + \alpha\text{-Ketobuttersäure}$$

$$\alpha\text{-Ketobuttersäure} + \text{NADH} \xrightarrow[\text{LDH}]{\text{E.C. 1.1.1.27}} \alpha\text{-Hydroxybuttersäure} + NAD^+$$

Die enzymatische Reaktion wurde photometrisch bei $22^{\circ}C$ verfolgt. Dazu registrierte man die Extinktionsänderung ΔE des Reaktionsansatzes (3 ml) bei 366 nm kontinuierlich über 10 min. Im Reaktionsansatz befanden sich 0,1 ml einer NADH-Lösung (13,4 mM), 0,02 ml kristallisierte LDH-Suspension (5 mg in 1 ml 2,2 M $(NH_4)_2SO_4$), 0,02 ml PALP (10 mM), 0,1 ml Thr (500 mM) und 2,735 ml Puffer C (100 mM; pH 7,9). Nach der Ausbildung der Schiff'schen Base im Ansatz (ca. 1 min Wartezeit) wurde die Reaktion mit 0,025 ml Enzymrohextrakt (12 mg/ml Proteingehalt) gestartet und ΔE_{366}/min an einem Eppendorf-Spektralphotometer PM 1101 M mit angeschlossenem Kompensationsschreiber 6512 gemessen. Nach dem Abzug der unspezifischen Aktivität, die in einem Parallellauf ohne Thr ermittelt wurde, erhält man die spezifische Akti-

vität der Threonindesaminase mit folgender Berechnung:

$$\text{Spezifische Aktivität} = \frac{\Delta E/\text{min} \cdot 60}{\varepsilon_{NADH} \cdot c_{Protein} \cdot d} \left\{\frac{\mu\text{Mol}}{h \cdot mg}\right\}$$

Die Konzentrationen der verschiedenen Hemmstoffe (sh. Ergebnisteil) lagen zwischen 0,33 und 3,31 mM und die Volumendifferenzen des Reaktionsansatzes wurden mit variierten Puffervolumina ausgeglichen.
Bei der Messung der von der Vorinkubation abhängigen Aktivität der peptidartigen Hemmstoffe wurde der Reaktionsansatz ohne Thr bei 37°C verschiedene Zeiten vorinkubiert und dann die Reaktion mit Thr gestartet. Die dabei zu erwartende generelle Abnahme der spezifischen Aktivität der Threonindesaminase wurde in einem Parallelansatz ohne Hemmstoffe bestimmt.
Die grafischen Darstellungen zeigen die prozentuale Abnahme der spezifischen Aktivität der Threonindesaminase durch verschiedene Hemmstoffe in Konzentrations- und Zeitabhängigkeit.

2.8. Methoden zur physikalischen und chemischen Charakterisierung

2.8.1. Dünnschichtchromatografiesysteme

Die Dünnschichtchromatografie (Stahl, 1967) diente während der Aufarbeitung als Reinheitskontrolle, zur Identifizierung und zur Klärung der Frage, ob man es mit einer oder mehreren biologisch aktiven Substanzen zu tun hat. Die R_f-Werte der Hemmstoffe wurden mittels Bioautografie (vgl. 2.7.1.5.) und anderen Identifizierungsmethoden (vgl. 2.8.2.) ermittelt. Es kamen folgende Laufmittel (LM) zur Anwendung:

Nr. des LM

A: Butanol-(1) : Eisessig : Wasser (3:1:1; v/v/v)
B: Propanol-(1) : Wasser (7:3; v/v)
C: Butanol-(1) : Eisessig : Wasser (2:1:1; v/v/v)
D: Pyridin : Wasser : Äthanol (1:1:1; v/v/v)

E: Äthanol : Wasser (7:3; v/v)
F: Propanol-(2) : Eisessig : Wasser (3:1:1; v/v/v)
G: Propanol-(2) : Ammoniak (25 %) : Wasser (7:1:2; v/v/v)
H: Äthanol : Ammoniak (25 %) : Wasser (7:1:2; v/v/v)
I: Äthanol : Eisessig : Wasser (4:1:1; v/v/v)
J: Propanol-(1) : Wasser (2:1; v/v)
K: Butanol-(1) : Eisessig : Wasser (4:1:5; v/v/v)
L: Butanol-(1) : Eisessig : Wasser (63:27:10; v/v/v)
M: Butanol-(1) : Äthanol : Wasser : Propionsäure (40:40:20:8; v/v/v/v)

2.8.2. Methoden zur Identifizierung

Neben der Bioautografie (vgl. 2.7.1.5.) konnte man die R_f-Werte der Hemmstoffe auch mit der gesättigten Jodkammer und mit 0,1 %-iger Ninhydrinsprühreagenz identifizieren. Andere gebräuchliche Sprühreagenzien zeigten bei X-97 und X-1606 negative Ergebnisse.

Weiterhin trugen die automatische Aminosäureanalyse (ASA) nach der Hydrolyse (6 N HCl; 110°C; 5 h; Sovirelkölbchen) von X-97 und X-1606 sowie die Elementaranalyse von X-1606 zu den Strukturvorschlägen bei. Die ASA von X-97 wurde von Mitarbeitern von Herrn Prof. Dr. G. Jung, Institut für Organische Chemie, Universität Tübingen, durchgeführt. Die Elementaranalyse und ASA von X-1606 erfolgte durch Mitarbeiter von Herrn Prof. Dr. A. Zeeck, Organisch-Chemisches Institut der Universität Göttingen.

2.8.3. Stabilitätsversuche und Löslichkeit

Es wurden Stabilitätsversuche in verschiedenen pH-Bereichen und bei verschiedenen Temperaturen durchgeführt. Dazu testete man die biologische Aktivität der einzelnen Lösungen nach 1, 2 und 7 Tagen gegen einen bestimmten Testorganismus. Aus der Abnahme der Aktivität (%) ergibt sich die pH-Stabilität bei verschiedenen Temperaturen.

Zur Feststellung der Löslichkeit in verschiedenen Lösungsmitteln wurden äquimolare Mengen der Substanz gelöst, abfiltriert und mittels Plattendiffusionstest (vgl. 2.7.1.1.) und einer Eichkurve der Substanz die Löslichkeit (%) ermittelt. Wasser, Methanol, Äthanol, Propanol, Butanol, Essigsäureäthylester und Chloroform dienten als Lösungsmittel.

2.8.4. Spektren

X-97 und x-1606 wurden im UV-Bereich (350 bis 200 nm) in einem Varian-Techtron UV-VIS Spectrophotometer Modell 635 in Quarzküvetten (d= 1 cm) spektroskopisch untersucht. Als Lösungsmittel dienten Wasser und Methanol.
Das IR-Spektrum von X-1606 in KBr wurde in einem Perkin-Elmer-Spektrograph, Modell 157 G, im Organisch-Chemischen Institut der Universität Göttingen durch Mitarbeiter von Herrn Prof. Dr. A. Zeeck erstellt.

3. E R G E B N I S S E

3.1. Antibiotikum aus Tü 97

3.1.1. Fermentationen

Die Fermentationsbedingungen sind unter 2.5.1. und 2.5.2. beschrieben. Der Verlauf einer typischen Fermentation ist in Abb. 1 gezeigt. Bei 10 l-Fermentationen wurden nur ca. 20 bis 60 % (Vergleich zu 100 ml-Submerskulturen) an X-97 produziert. Im Mycel befand sich keine weitere biologisch aktive Substanz. Auch konnte die bei Möller (1971) beschriebene Aktivität gegen Bacillus subtilis in keiner Phase der Fermentation gefunden werden. Die gute Korrelation zwischen biologischer Aktivität und pH-Wert ermöglichte eine schnelle Bestimmung des optimalen Erntezeitpunktes der Kultur.

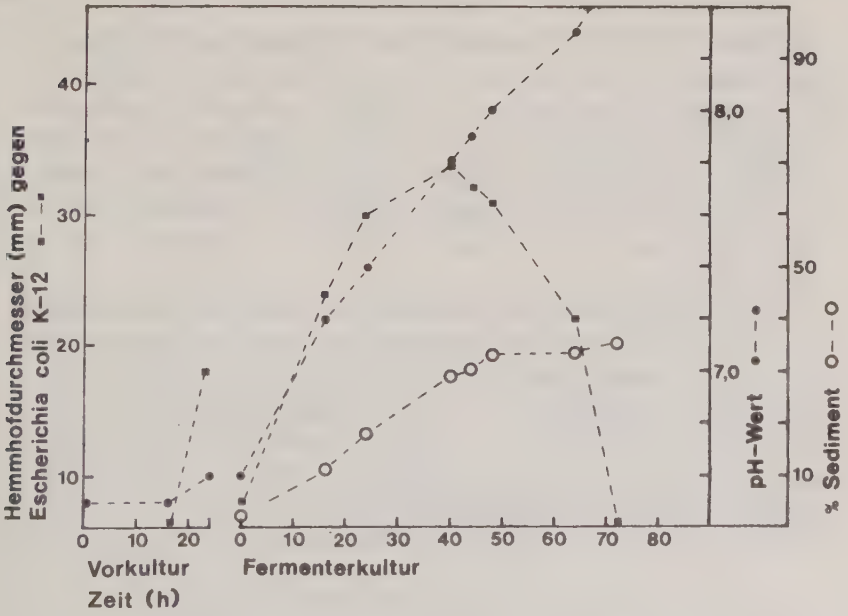


Abb.1: Verlauf einer Fermentation im 10 l-Maßstab von X-97.

3.1.2. Isolierung und Reinigung des Antibiotikums

Möller (1971) beschreibt Isolierungs- und Reinigungsmethoden, die nur begrenzt übernommen werden konnten. Zwei neue Wege zur Gewinnung von X-97 sind unter 2.5.4. beschrieben. Jedoch sind auch diese nicht befriedigend. Vor allem muß an dieser Stelle bemerkt werden, daß X-97 keine stabile Substanz ist, sondern daß sie während der gesamten Aufarbeitungsprozedur ständig im Gleichgewicht mit einer nur schwach aktiven Substanz (X-97-modifiziert) steht und somit der Gehalt an X-97 um so mehr abnimmt, je intensiver man die Reinigung betreibt. X-97-modifiziert unterscheidet sich von X-97 im R_f-Wert und in der Ninhydrinfärbung, ist aber ebenfalls ein Glutaminantagonist mit Dipeptidcharakter (Untersuchungen unveröffentlicht). Deshalb war der Kompromiß unumgänglich, alle weiteren biologischen Untersuchungen mit einem Reinigungsprodukt durchzuführen, das dünnschichtchromatografisch sauber war, das jedoch neben X-97 auch noch X-97-modifiziert enthielt. Es sei noch erwähnt, daß X-97-modifiziert bei allen versuchten Reinigungsprozeduren gleichermaßen entstand.

Substanz	Ninhydrinreaktion	R_f-Wert in Laufmittel A auf DC-Alufolie KG 60
X-97	rot	0,21 - 0,24
X-97-modifiziert	orange	0,16 - 0,18

Auf eine Bilanzierung der Aufarbeitung wurde aus diesem Grund und wegen der Existenz von Antagonisten (Glu-NH_2) im Medium verzichtet. Rechnet man von einer Eichkurve mit reinem X-97 auf dessen Konzentration in der Kulturbrühe zurück, so ergibt sich eine Konzentration des Antibiotikums von 10 mg/l. Bei einer Verdünnung von 1:10 zeigt X-97 im Plattendiffusionstest eine Abnahme im Hemmhofdurchmesser um 10 mm.

3.1.3. Biologische Charakterisierung

3.1.3.1. Wirkungsspektrum

Das Spektrum der Aktivität von X-97 auf Pro- und Eukaryonten zeigt Tab. 1. Grampositive Bakterien sind unempfindlich gegen das Antibiotikum. Als empfindlichste Teststämme erwiesen sich Escherichia coli K-12 und Salmonella typhimurium. Phytopathogene Bakterien werden nur schwach oder nicht gehemmt. Bei Eukaryonten sind Botrytis cinerea und Mucor hiemalis empfindliche Stämme, während X-97 auf Hefen nur schwach oder nicht wirkt.

3.1.3.2. Antagonismustests

Mit Antagonismustests (vgl. 2.7.1.3.) wurden Untersuchungen zur Aufnahme und zum Wirkort von X-97 durchgeführt. Es zeigte sich, daß Ala, D-Ala, Arg, Asp-COOH, Asp-NH_2, Cys-SH, Cys-Cys, Glu-COOH, Gly, His, Homoserin, Ile, Leu, Lys, Met, Orn, Phe, Pro, Ser, Thr, Try und Tyr bei Escherichia coli K-12 bis 20 mM ebensowenig die toxische Wirkung von X-97 beeinflussen wie verschiedene Vitamine und Basen. Einziges aufhebendes Prinzip ist Glu-NH_2. Gleiche Ergebnisse lieferten auch die Testorganismen Escherichia coli B, Salmonella typhimurium und Klebsiella pneumoniae.

Da verschiedene Peptide die toxische Wirkung von X-97 beeinflussen, deren einzelne AS-Untereinheiten jedoch nicht, muß es sich in diesen Fällen um eine Kompetition zur Aufnahme, also um eine Konkurrenzreaktion um ein Transportsystem handeln (Payne, 1968; Payne & Gilvarg, 1971; Payne, 1975; Payne & Gilvarg, 1978). Die Ergebnisse der Antagonismustests zwischen Peptiden und X-97 an Escherichia coli K-12 sind unter 3.1.3.4. (Tab. 2) gemeinsam mit den Untersuchungen an transportdefekten Mutanten angeführt.

Tab. 1: Minimale Hemmkonzentrationen von X-97 im Plattendiffusionstest gegen verschiedene Teststämme.

Organismen	IKT (°C)	Medium	IKT (h)	MHK (µg/ml) †)
BAKTERIEN				
EUBACTERIALES				
gramnegative Bakterien				
Escherichia coli K-12	37	DM	18	0,5
Escherichia coli B	37	DM	18	2,0
Salmonella typhimurium	37	DM	18	0,5
Serratia marcescens	26	DM	18	(16)
Klebsiella pneumoniae	37	DM	18	4,0
Agrobacterium tumefaciens	27	DM	18	>1000
Erwinia amylovora	26	DM	18	500
grampositive Bakterien				
Bacillus subtilis	37	DM	18	>1000
Bacillus brevis	37	BM	18	>1000
Corynebacterium poinsettiae	26	DM	18	>1000
Staphylococcus aureus	37	SA	18	>1000
PSEUDOMONADALES				
Pseudomonas aeruginosa	37	DM	18	32
Pseudomonas fluorescens	26	DM	18	>1000
Pseudomonas lachrymans	26	DM	40	>1000
PILZE				
ZYGOMYCETES				
Mucor hiemalis	RT	DM	18	8,0
ASCOMYCETES u. DEUTEROMYCETES				
Botrytis cinerea ††)	24	MA	18	4,0
Saccharomyces cerevisiae αS 288 C	30	SI	18	>1000
Candida albicans	30	CA	18	(100)

( ) inkomplette Hemmung

†) Von einer Lösung dieser Konzentration wurden 20 µl aufgetropft.

††) Test an der Riesenkolonie (Loeffler, 1970).

3.1.3.3. Versuche im Biophotometer

Abb. 2 zeigt die Wirkung von X-97 auf Escherichia coli K-12 im Biophotometer. Vergleicht man die MHK im Biophotometer (etwa 0,05 µg/ml) mit der im Plattendiffusionstest (vgl. 3.1.3.1.), so sieht man, daß sie sich etwa um den Faktor 10 unterscheiden. Dies ist jedoch ein oft beobachtetes Phänomen und läßt sich mit Diffusionsgrenzen im Plattendiffusionstest erklären. Aus Abb. 2 ist auch ersichtlich, daß X-97 bakteriostatisch wirkt und der Teststamm nach Verbrauch des Hemmstoffs normal weiterwächst. Es handelt sich hier nicht um eine erworbene Resistenz der Zellkultur, da auch eine erneute Zugabe von X-97 zu einem späteren

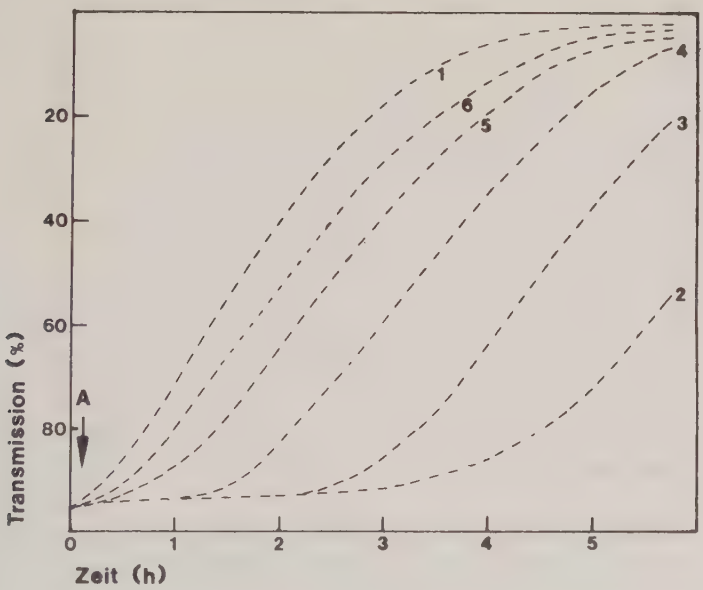


Abb. 2: Wirkung von X-97 auf das Wachstum von Escherichia coli K-12 auf DM-Medium.

1 Kontrolle ohne Hemmstoff
2 Zeitpunkt A: 1,8 µg/ml X-97
3 Zeitpunkt A: 0,9 µg/ml X-97
4 Zeitpunkt A: 0,2 µg/ml X-97
5 Zeitpunkt A: 0,1 µg/ml X-97
6 Zeitpunkt A: 0,05 µg/ml X-97

Zeitpunkt noch hemmend wirkt (Ergebnis unveröffentlicht). Abb. 3 stellt eine Bestätigung der Ergebnisse unter 3.1.3.2. und 3.1.3.4. dar. Die toxische Wirkung setzt unmittelbar nach der Zugabe von X-97 ein und läßt sich ebenso unmittelbar durch Zugabe von Glu-NH_2 vollständig aufheben. Beim Zusatz von Ala, Ala-ala und Ala-ala-ala wird die Hemmung von X-97 nur durch Ala-ala aufgehoben; jedoch nur so lange, bis Ala-ala aufgenommen ist. Danach kommt es erneut zur Wachstumshemmung durch X-97.

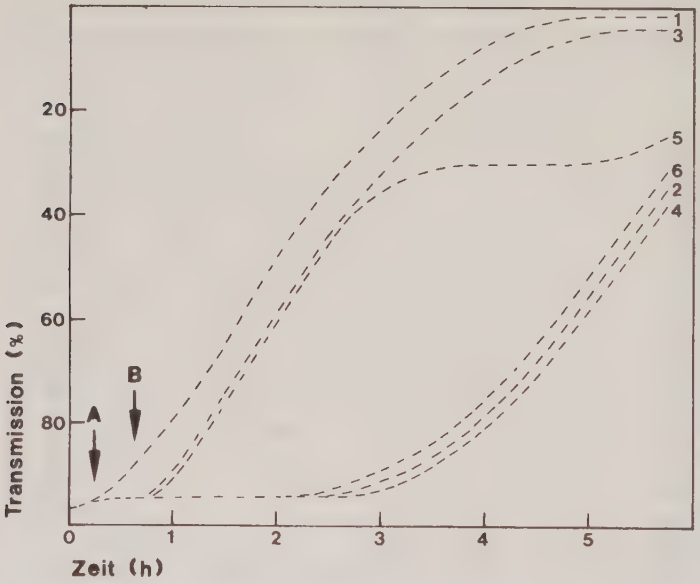


Abb. 3: Aufhebung der Hemmung von X-97 durch Glu-NH_2 und Peptide an Escherichia coli K-12 auf DM-Medium.

1 Kontrolle ohne Hemmstoff
2 Zeitpunkt A: 1,0 µg/ml X-97
3 Zeitpunkt A: 1,0 µg/ml X-97
Zeitpunkt B: 0,3 mM Glu-NH_2
4 Zeitpunkt A: 1,0 µg/ml X-97
Zeitpunkt B: 0,3 mM Ala
5 Zeitpunkt A: 1,0 µg/ml X-97
Zeitpunkt B: 0,3 mM Ala-ala
6 Zeitpunkt A: 1,0 µg/ml X-97
Zeitpunkt B: 0,3 mM Ala-ala-ala

3.1.3.4. Wirkung auf transportdefekte Mutanten

Wildtyp und transportdefekte Mutanten von Escherichia coli K-12 zeigen unterschiedliche Aufhebungsmuster im Antagonismustest,

Tab. 2: Antagonismustests mit X-97 und Peptiden auf transportdefekte Mutanten und den Wildtyp von Escherichia coli K-12 auf DM-Medium.

Peptide (20 mM)	Wachstumsantwort X-97 (10 µg/ml)		
	Wildtyp	Mut. A	Mut. C
Ala-ala	+	+	-
Ala-D-ala	-	-	-
D-Ala-ala	-	-	-
D-Ala-D-ala	-	-	-
ß-Ala-ala	-	-	-
Ala-gly	+	+	-
Gly-ala	+	+	-
Ala-ser	+	+	-
Tyr-tyr	+	+	-
Ser-ala	+	+	-
Gly-gly	+	+	-
Met-met	+	+	-
Ala-ala-ala	-	-	+
Ala-ala-D-ala	-	-	+
Ala-D-ala-ala	-	-	-
D-Ala-D-ala-D-ala	-	-	-
Gly-gly-ala	-	-	+
Gly-gly-gly	-	-	+
Lys-lys-lys	-	-	+
Tyr-tyr-tyr	-	-	+
Glutathion	-	-	-
Met-met-met	-	-	+
Ala-ala-ala-ala	-	-	+
Phe-phe-phe-phe	-	-	+
Penta-Ala	-	-	+

Erklärungen: + Aufhebung der Hemmung
- keine Aufhebung der Hemmung

wenn X-97 gegen verschiedene Peptide getestet wird. Tab. 2 faßt die Ergebnisse der Tests zusammen. Vergleicht man die Muster der unter 3.5. (Tab. 12) aufgeführten Dipeptidhemmstoffe, so erkennt man, daß X-97 ein Antibiotikum vom Bacilysintyp ist. Auch hier antagonisieren alle Dipeptide der LL-Konfiguration mit einer α-Aminogruppe die toxische Wirkung. Mut. B, kreuzresistent gegen alle bekannten Dipeptidhemmstoffe, ist ebenfalls gegen X-97 resistent und die in der dpt defekte Mut. C zeigt Aufhebungsmuster gegen Oligopeptide und nicht mehr gegen Dipeptide. Die opt-defekte Mut. A unterscheidet sich in ihren Aufhebungsmustern nicht vom Wildtyp.

3.1.4. Physikalische und chemische Charakterisierung

3.1.4.1. Löslichkeit und Stabilität

X-97 ist 100 %-ig löslich in Wasser und Methanol, unlöslich dagegen in Propanol, Butanol, Essigsäureäthylester und Chloroform. In Äthanol ist es nur nach Erwärmen löslich, beim Abkühlen bildet sich ein weißer flockiger Niederschlag.

Die Aktivität von X-97 ist im alkalischen Bereich über pH 9,0 (wässr. Ammoniak) nach einem Tag bei 4°C, RT und 37°C vollständig zerstört. Im sauren Milieu unter pH 3,0 (wässr. HCl) nimmt sie kontinuierlich ab und sinkt nach 7 Tagen bei 4°C auf 50 %, bei RT auf 25 % und bei 37°C auf 0 % ab. Bei 4°C bleibt X-97 zwischen pH 5,0 und 7,0 über 7 Tage ohne Aktivitätsverlust.

3.1.4.2. Dünnschichtchromatografie und Identifizierung

X-97 wurde in verschiedenen Laufmitteln (vgl. 2.8.1.) chromatografisch entwickelt. Tab. 3 zeigt die R_f-Werte dieser Untersuchungen. Von Ala als Vergleichssubstanz wurden die R_f-Werte unter gleichen Bedingungen ermittelt. Durch Vergleich der R_f-Werte wurde auch ausgeschlossen, daß X-97 mit dem Dipeptidanti-

biotikum und Glutaminsynthetasehemmstoff Ala-3(α-chlor-3-hydroxy-2-oxo-3-azetidinylmethyl)-ala (Ro 7-7962) (Scannell et al., 1975) identisch ist (Ergebnisse unveröffentlicht).

Tab. 3: R_f-Werte von X-97 in verschiedenen Laufmitteln und auf verschiedenen Trägermaterialien.

Laufmittel	Träger (DC-Alufolie)	R_f-Werte	
		X-97	Ala
A	KG 60	0,22	0,24
B	KG 60	0,28	0,40
C	KG 60	0,30	0,36
C	Cellulose	0,50	0,58
A	Cellulose	0,36	0,38
B	Cellulose	0,33	0,43
D	KG 60	0,48	0,48
E	KG 60	0,48	0,41
F	KG 60	0,47	0,42
G	KG 60	0,30	0,22
H	KG 60	0,68	0,50

Nach der Entwicklung konnte X-97 durch Bioautografie (vgl. 2.7.1.5.), durch eine positive Reaktion mit Ninhydrinsprühreagenz (vgl. 2.8.2.) bzw. durch Verfärbung in der Jodkammer identifiziert werden.

3.1.4.3. Strukturvorschläge

Das UV-Spektrum von X-97 zeigt keine Absorptionsbanden. Die automatische Aminosäureanalyse nach der Hydrolyse von X-97 ergab 1 Mol Ala und zwei weitere unbekannte Aminosäuren zu je 0,5 Mol (bei X-97-modifiziert 1 Mol Ala und 1 Mol einer unbekannten Aminosäure). Die Umsetzung mit Diazomethan zum Nachweis der Carboxylgruppe gelang nur an 50 % der Verbindung. Die Ninhydrinreaktion ist überraschend schwach, was für eine sterische Behinderung der NH_2-Gruppe der N-terminalen AS sprechen könnte. Dann müßte die AS-Untereinheit Ala im Dipeptid C-terminal ge-

bunden sein. Durch Gas- und Chiralitätschromatografie wurde das Vorhandensein von Ala bestätigt und ihm die L-Konfiguration zugeordnet.

Alle chemischen Analysen sind jedoch nur mit großen Vorbehalten interpretierbar, da sich zwischen X-97 und X-97-modifiziert (vgl. 3.1.2.) immer wieder ein Gleichgewicht einstellt, das die Auswertung erschwert.
Anders sieht es dagegen mit der Interpretation der biologischen Daten aus. Antagonismustests (vgl. 3.1.3.2.), Versuche im Biophotometer (vgl. 3.1.3.3.) und Untersuchungen an transportdefekten Mutanten (vgl. 3.1.3.4.) lassen den Schluß zu, daß X-97 und X-97-modifiziert Dipeptidantibiotika sind.

3.2. Antibiotikum aus Tü 1606

3.2.1. Fermentationen

Abb. 4 zeigt den Verlauf einer Fermentation von Tü 1606 im 10 l-Maßstab. Die Bedingungen dazu sind unter 2.6.1. bzw. 2.6.2. beschrieben. Im Fermenter wurden gleich gute Produktbildungsraten an X-1606 erzielt wie in 100 ml-Submerskulturen. Aus dem Mycel konnten nach der Ernte nur noch Spuren einer biologisch aktiven Substanz isoliert werden, die jedoch mit X-1606 identisch war. Eine gute Korrelation zwischen pH-Wert und höchster Konzentration an Antibiotikum in der Kultur wurde nicht gefunden, das Antibiotikum lag aber in einem großen Zeitraum der Fermentation stabil vor, so daß die Wahl des Erntezeitpunkts unproblematisch war.

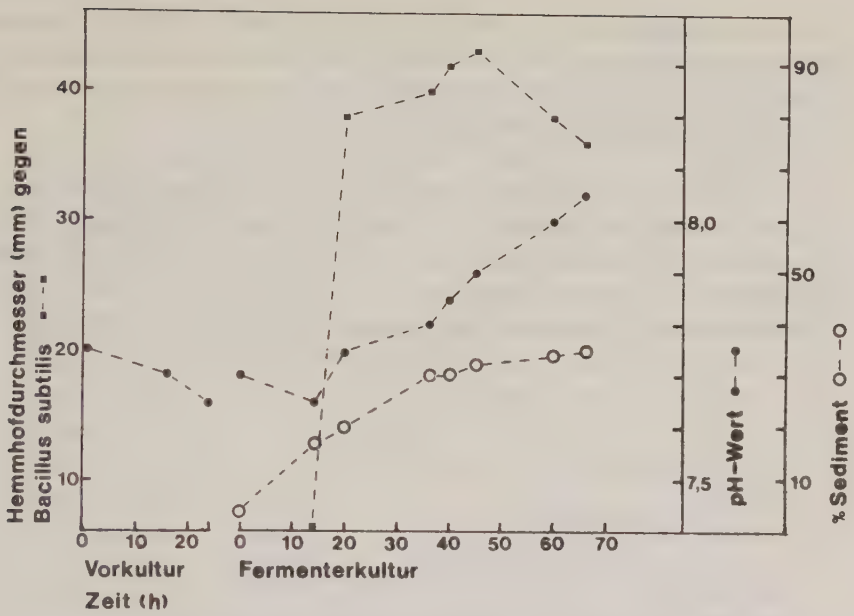


Abb. 4: Verlauf einer Fermentation im 10 l-Maßstab von Tü 1606.

3.2.2. Isolierung und Reinigung des Antibiotikums

Die Gewinnung des Antibiotikums erfolgte wie unter 2.6.4. beschrieben. Auch bei X-1606 wurde auf eine Bilanzierung der Aufarbeitung verzichtet, da natürliche Antagonisten (Glu-NH_2) des Mediums die Ergebnisse verfälschen würden. Errechnet man mit Hilfe einer Eichkurve die Konzentration von X-1606 in der Kulturbrühe, so kommt man auf 20 mg/l. Aus einer 10 l-Fermentation wurden 40 mg reines X-1606 isoliert, das entspricht theoretisch 20 % der ursprünglich vorhandenen Aktivität. Bei einer Verdünnung von 1:10 zeigt X-1606 im Plattendiffusionstest eine Abnahme des Hemmhofdurchmessers um 10 mm.
Trotz intensiver Suche konnte aus der Kultur von Tü 1606 außer X-1606 keine weitere antibiotisch aktive Substanz isoliert werden. Eine Kontrolle der Aufarbeitung mit dem ebenfalls gegen

X-1606 hochempfindlichen Teststamm Escherichia coli K-12 erwies sich als ungeeignet, da über den Kationenaustauscher auch Val aus dem Kulturfiltrat angereichert wird, das gegen diesen Organismus toxisch ist (DeFelice et al., 1977; 1979).

Alle biologischen Untersuchungen wurden mit chromatografisch reinem X-1606 durchgeführt. Für die im Organisch-Chemischen Institut der Universität Göttingen durchgeführten Untersuchungen (IR-Spektrum; Elementaranalyse; ASA) unterzog man X-1606 noch einer weiteren Reinigung über präparative Dünnschichtchromatografie (PSC-Fertigplatten) mit dem Laufmittel B (vgl. 2.8.1.).

3.2.3. Biologische Charakterisierung

3.2.3.1. Wirkungsspektrum

X-1606 wirkt auf Bakterien und Pilze. Hefen und Pseudomonasarten werden dagegen nicht oder nur schwach gehemmt. Tab. 4 faßt die Ergebnisse zusammen. Escherichia coli K-12 und Bacillus subtilis werden von X-1606 am stärksten gehemmt, phytopathogene Organismen dagegen kaum.

Tab. 4: Minimale Hemmkonzentrationen von X-1606 im Plattendiffusionstest gegen verschiedene Teststämme.

Organismen	IKT (°C)	Medium	IKT (h)	MHK (µg/ml) †
BAKTERIEN				
EUBACTERIALES				
gramnegative Bakterien				
Escherichia coli K-12	37	DM	18	0,02
Escherichia coli B	37	DM	18	0,12
Salmonella typhimurium	37	DM	18	0,18
Serratia marcescens	26	DM	18	1,6
Klebsiella pneumoniae	37	DM	18	1,2
Agrobacterium tumefaciens	27	DM	18	5,0

Fortsetzung von Tab. 4:

Organismen	IKT (°C)	Medium	IKT (h)	MHK (µg/ml) †)
Achromobacter geminiani	27	DM	18	>1000
Erwinia amylovora	26	DM	18	50
grampositive Bakterien				
Bacillus subtilis	37	DM	18	0,03
Bacillus brevis	37	BM	18	>1000
Corynebacterium poinsettiae	26	DM	18	>1000
Corynebacterium spec.	27	DM	18	1,4
Micrococcus luteus	27	DM	18	>1000
Staphylococcus aureus	37	SA	18	(1,0)
PSEUDOMONADALES				
Pseudomonas aeruginosa	37	DM	18	>1000
Pseudomonas fluorescens	26	DM	18	100
Pseudomonas lachrymans	26	DM	40	50
PILZE				
ZYGOMYCETES				
Mucor hiemalis	RT	DM	18	25
ASCOMYCETES u. DEUTEROMYCETES				
Botrytis cinerea ††)	24	MA	18	1,0
Saccharomyces cerevisiae	30	SM	18	1000
αS 288 C	30	SI	18	1000
Saccharomyces cerevisiae	30	SM	18	>1000
FL 200	30	SI	18	>1000
Candida albicans	30	SM	18	1000
	30	SI	18	1000
	30	CA	18	(100)

( ) inkomplette Hemmung

†) Von einer Lösung dieser Konzentration wurden 20 µl auf eine Filterrondelle aufgetropft.

††) Test an der Riesenkolonie nach Loeffler (1970).

3.2.3.2. Antagonismustests

Auch bei X-1606 wurden Studien zum Aufnahmegeschehen und zum Wirkort durchgeführt (vgl. 2.7.1.3.). Dabei beeinflußten Ala, D-Ala, Arg, Asp-COOH, Asp-NH_2, Cys-SH, Cys-Cys, Gly, His, Homoserin, Ile, Leu, Lys, Met, Orn, Phe, Pro, Ser, Thr, Try und Tyr bei Escherichia coli K-12 die toxische Wirkung bis zu 20 mM nicht. Basen und verschiedene Vitamine zeigten ebenfalls keine Effekte. Glu-NH_2 und sehr schwach auch Glu-COOH heben die toxische Wirkung von X-1606 vollständig auf. Alle bisher bekannten Naturstoffe mit einem solchen Verhalten waren Hemmstoffe der Glutaminsynthetase. Ähnlich verhielt es sich bei Bacillus subtilis; hier antagonisiert auch noch Asp-NH_2 schwach die Hemmung durch X-1606.

Wie bei X-97 (vgl. 3.1.3.2.), so heben auch bei X-1606 verschiedene Peptide, nicht aber deren einzelne AS-Untereinheiten, die toxische Wirkung auf. Die Ergebnisse dieser auf der Transportebene liegenden Antagonismen faßt Tab. 5 unter 3.2.3.4. gemeinsam mit Studien an Escherichia coli K-12 zusammen.

3.2.3.3. Versuche im Biophotometer

Im Biophotometer wirkt X-1606 auf Bacillus subtilis, Escherichia coli K-12 und Escherichia coli B bakteriostatisch. Durch Glu-NH_2 und Ala-ala-ala wird die Hemmung unmittelbar und vollständig aufgehoben. Ala und Ala-ala zeigen bei allen drei Teststämmen keine Effekte (Ergebnisse unveröffentlicht). Damit finden die Ergebnisse unter 3.2.3.2. und 3.2.3.4. Bestätigung.

3.2.3.4. Wirkung auf transportdefekte Mutanten

Tab. 5 faßt die Aufhebungsmuster bei den Wildtypen von Bacillus subtilis und Escherichia coli K-12 zusammen, wo verschiedene Peptide gegen X-1606 getestet wurden. Die Ergebnisse bei Bacillus subtilis stimmen vollständig mit den Aufhebungsmustern

überein, die man mit Escherichia coli K-12 erhält. Gegen die in der opt defekten Mutanten beider Teststämme (Mut. A) war X-1606 vollständig unwirksam. Vergleicht man mit den Aufhebungsmustern bekannter tripeptidartiger Hemmstoffe (Diddens et al., 1976; 1979; Diddens, 1979) und der Kreuzresistenz der opt-defekten Mutante von Escherichia coli K-12, so kann man daraus schluß-

Tab. 5: Antagonismustests mit X-1606 und Peptiden an Bacillus subtilis und Escherichia coli K-12 auf DM-Medium.

Peptide (20 mM)	Wachstumsantwort X-1606 (5 µg/ml)	
	Bacillus subtilis	Escherichia coli K-12
Ala-ala	-	-
Ala-D-ala	-	-
D-Ala-ala	-	-
D-Ala-D-ala	-	-
ß-Ala-ala	-	-
Ala-gly	-	-
Gly-ala	-	-
Tyr-tyr	-	-
Gly-gly	-	-
Met-met	-	-
Ala-ala-ala	+	+
Ala-ala-D-ala	+	+
Ala-D-ala-ala	-	-
D-Ala-D-ala-D-ala	-	-
Gly-gly-ala	+	+
Gly-gly-gly	+	+
Lys-lys-lys	+	+
Tyr-tyr-tyr	+	+
Glutathion	-	-
Met-met-met	+	+
Ala-ala-ala-ala	+	+
Phe-phe-phe-phe	+	+
Penta-Ala	+	+

Erklärungen: + Aufhebung der Hemmung
- keine Aufhebung der Hemmung

folgern, daß X-1606 ein Hemmstoff vom Tripeptidtyp ist. Alle Oligopeptide mit ausschließlicher L-Konfiguration antagonisieren die Aufnahme von X-1606, ebenso Ala-ala-D-ala (LLD). Ala-D-ala-ala (LDL) und D-Ala-D-ala-D-ala (DDD) zeigen keinen Effekt.

3.2.4. Physikalische und chemische Charakterisierung

3.2.4.1. Löslichkeit und Stabilität

X-1606 ist ein hydrophiles Antibiotikum, das 100 %-ig löslich in Wasser und Methanol, unlöslich dagegen in Äthanol, Propanol, Butanol, Aceton, Essigsäureäthylester und Chloroform ist.

Im pH-Bereich von pH 2,0 bis 9,0 behielt X-1606 über 7 Tage bei verschiedenen Temperaturen seine biologische Aktivität vollständig.

3.2.4.2. Dünnschichtchromatografie und Identifizierung

In verschiedenen Laufmitteln (vgl. 2.8.1.) wurde X-1606 chromatografisch entwickelt. Tab. 6 faßt die R_f-Werte im Vergleich zu denen von Ala zusammen. Durch Vergleich der R_f-Werte wurde auch eine eventuelle Identität zwischen X-1606 und zwei anderen Glutaminsynthetasehemmstoffen, die als Tripeptide vorliegen, ausgeschlossen. PTC-ala-ala (Gugel, 1971; Bayer et al., 1972) und PMS-ala-ala (Pruess et al., 1973) zeigen andere R_f-Werte (Ergebnisse unveröffentlicht).

X-1606 wurde nach der Entwicklung durch Bioautografie (vgl. 2.7.1.5.) und durch eine positive Ninhydrinreaktion (vgl. 2.8.2.) identifiziert.

Tab. 6: R_f-Werte von X-1606 in verschiedenen Laufmitteln und auf verschiedenen Trägermaterialien.

Laufmittel	Träger (DC-Alufolie)	R_f-Werte	
		X-1606	Ala
B	KG 60	0,33	0,32
B	Cellulose	0,46	0,50
C	KG 60	0,16	0,40
B	KG 60/Kieselgur	0,30	0,33
C	Cellulose	0,52	0,49
I	KG 60	0,23	0,57
J	KG 60	0,23	0,37
K	KG 60	0,03	0,11
L	KG 60	0,04	0,22
M	KG 60	0,06	0,27

3.2.4.3. Strukturvorschläge

Das UV-Spektrum von X-1606 ist ohne Absorptionsbanden. Im IR-Spektrum sind Banden bei 1645, 1600, 1449, 1398, 1290, 1134, 1030 und 869 cm^{-1} vorhanden (1134 cm^{-1} könnte eine P=O-Bande einer Phosphonogruppe sein).
Eine vorläufige Elementaranalyse brachte folgende Ergebnisse: P= 3,59; N= 12,34 und S= 1,54. Der Schwefel muß nicht auf eine S-haltige AS hindeuten, er kann auch vom Sulfatsalz stammen.
In der ASA wurden 3 Mol Aminosäuren gefunden, davon 1 Mol einer sauren AS (eventuell Phosphinothricin oder eine andere phosphonohaltige AS) und 2 Mol einer neutralen AS, die noch unidentifiziert, jedoch auf keinen Fall Ala ist.
Die Analysendaten stellen nur eine vorläufige Orientierung dar, decken sich jedoch gut mit den biologischen Daten.

3.3. Untersuchung von Ala-ala-(O-carbamyl)-D-ser

Im Rahmen der Suche nach neuen Aminosäureantagonisten wurde O-Carbamyl-D-serin, ein seit langem bekannter Hemmstoff der Alaninracemase (Tanaka et al., 1963; Lynch & Neuhaus, 1966; Wang & Walsh, 1978) aus einer neuen Streptomycetenart isoliert (Ergebnisse unveröffentlicht). Die Gewinnung einer größeren Menge dieses Hemmstoffs aus Tü 1753 (Streptomyces venezuelae

Tab. 7: Minimale Hemmkonzentrationen von O-Carbamyl-D-serin und Ala-ala-(O-carbamyl)-D-ser gegen verschiedene Teststämme im Plattendiffusionstest.

Organismen	IKT (°C)	Medium	IKZ (h)	MHK (mM) †)	
				O-Carbamyl-D-serin	Ala-ala-(O-carbamyl)-D-ser
EUBACTERIALES					
gramnegative Bakterien					
Escherichia coli K-12	37	DM	18	>40	>40
Salmonella typhimurium	37	DM	18	>40	>40
Serratia marcescens	37	DM	18	>40	>40
Klebsiella pneumoniae	37	DM	18	>40	>40
Agrobacterium tumefaciens	27	DM	18	1,25	>40
Erwinia amylovora	26	DM	40	>40	>40
grampositive Bakterien					
Bacillus subtilis	37	DM	18	0,6	>40
Corynebacterium poinsettiae	26	DM	18	>40	>40
Micrococcus luteus	27	DM	18	>40	>40
PSEUDOMONADALES					
Pseudomonas aeruginosa	37	DM	18	>40	>40
Pseudomonas fluorescens	26	DM	18	>40	>40
Pseudomonas lachrymans	26	DM	40	>40	>40

†) Von einer Lösung dieser Konzentration wurden 20 µl auf eine Filterrondelle aufgetropft.

EHRLICH et al., 1948) führte zu folgendem Synthesekonzept: O-Carbamyl-D-serin als Aminosäure zeigt ein recht armes antibakterielles Wirkungsspektrum auf grampositive Bakterien (Hagemann et al., 1955; Neuhaus, 1967). Mit den Kenntnissen über Aufnahmemöglichkeiten für Peptide via Peptidpermeasen (Smith & Dunn, 1970; Ames et al., 1973; Fickel & Gilvarg, 1973) wurde ein semisynthetisches Tripeptid hergestellt (Synthese unveröffentlicht), dessen Struktur unter 2.1.4. beschrieben ist. Tab. 7 zeigt die biologische Aktivität von O-Carbamyl-D-serin und Ala-ala-(O-carbamyl)-D-ser im Plattendiffusionstest. Das Tripeptid wirkte bis 40 mM gegen keinen der Teststämme hemmend, obwohl Organismen benutzt wurden, die sowohl für ihre Peptidase- als auch für ihre Permeaseaktivitäten bekannt sind. Der Grund für diese Unwirksamkeit wird mit der LLD-Konfiguration des semisynthetischen Tripeptids diskutiert.

3.4. Untersuchung von synthetischen Isoleucinantagonisten

3-Cyclohexenylglycin wurde von Celmer (1964) und von Keller-Schierlein et al. (1969) als Naturprodukt isoliert, nachdem es schon früher synthetisiert und als Isoleucinantagonist erkannt wurde (Edelson et al., 1958).
Das Naturprodukt Ketomycin, ein Hemmstoff einer Aminosäuredehydrogenase, die α-Keto-ß--methylvalerat in Ile umwandelt (Poralla, 1970), wird durch eine Dehydrogenase enzymatisch zu 3-Cyclohexenylglycin umgewandelt und hemmt dann ebenfalls die Threonindesaminase (Keller-Schierlein et al., 1969; Krüpe & Poralla, 1972). Jackson & Umbarger (1973) konnten im Falle einer Ketomycinresistenz bei Escherichia coli zeigen, daß sie durch eine defekte Transaminierung entstanden ist.
Edelson et al. (1958) fanden, daß sich 3-Cyclohexenylglycin im Vergleich zu Cyclopentylglycin, 2-Cyclopentenylglycin und 2-Cyclohexenylglycin als der wirkungsvollste Isoleucinantagonist bei Escherichia coli auszeichnete. Cyclohexylglycin und Cyclohexylalanin waren biologisch inaktiv.
3-Cyclohexenylglycin diente deshalb als Basis für die Synthese verschiedener Isoleucinantagonisten in Peptidform (Synthesen

Tab. 8: Minimale Hemmkonzentrationen der Isoleucinantagonisten gegen verschiedene Teststämme im Plattendiffusionstest.

Organismen	IKT (°C)	Medium	IKZ (h)	MHK (mM) †) Ketomycin	3-Cyclohexenylglycin	Cyclohexylglycin	Ala-(D,L)-3-cyclohexenylglycin	Di-(D,L)-3-cyclohexenylglycin	Ala-ala-3-cyclohexenylglycin	(D,L)-Cyclohexylglycyl-ala-ala	Ala-ala-(D,L)-cyclohexylglycin
BAKTERIEN											
EUBACTERIALES											
gramnegative Bakterien											
Escherichia coli K-12	37	DM	18	0,3	0,15	>40	0,08	0,3	0,01	>40	>40
Escherichia coli B	37	DM	18	0,15	0,08	>40	0,04	0,6	0,02	>40	>40
Salmonella typhimurium	37	DM	18	2,5	1,25	>40	1,25	5,0	0,3	>40	>40
Serratia marcescens	37	DM	18	0,6	0,3	>40	(2,5)	(5,0)	0,3	>40	>40
Klebsiella pneumoniae	37	DM	18	2,5	0,6	>40	5,0	10	5,0	>40	>40
Agrobacterium tumefaciens	27	DM	18	0,15	0,04	>40	0,15	0,6	0,02	>40	>40
Erwinia amylovora	26	DM	40	2,5	1,25	>40	5,0	10	2,5	>40	>40

grampositive Bakterien											
Bacillus subtilis	37	DM	18	0,08	0,3	2,5	0,0025	0,3	0,0003	0,005	0,005
Corynebacterium poinsettiae	26	DM	18	>40	>40	>40	>40	>40	>40	>40	>40
Micrococcus luteus	27	DM	18	>40	>40	>40	>40	>40	>40	>40	>40
PSEUDOMONADALES											
Pseudomonas aeruginosa	37	DM	18	>40	>40	>40	>40	>40	>40	>40	>40
Pseudomonas fluorescens	26	DM	18	>40	>40	>40	>40	>40	>40	>40	>40
Pseudomonas lachrymans	26	DM	40	5,0	>40	>40	>40	>40	>40	>40	>40
PILZE											
ZYGOMYCETES											
Mucor hiemalis	RT	DM	18	>40	>40	>40	(2,5)	(10)	(5)	>40	>40
ASCOMYCETES u. DEUTEROMYCETES											
Saccharomyces cerevisiae αS 288 C	30	SI	18	>40	(1,25)	>40	(10)	(1,25)	>40	>40	>40
Candida albicans	30	SI	18	>40	>40	>40	>40	>40	>40	>40	>40

( ) inkomplette Hemmung

†) Von einer Lösung dieser Konzentration wurden 20 µl auf eine Filterrondelle aufgetropft.

unveröffentlicht). Wir fanden, daß sich Cyclohexylglycin durch eine selektive Wirkung auf grampositive Organismen auszeichnet. Deshalb stellte auch diese Verbindung eine Ausgangsform für die Synthese weiterer peptidartiger Hemmstoffe dar (Synthesen unveröffentlicht).
Vorerst erschien uns dabei wenig beachtenswert, daß durch die Synthesen der Verbindungen Racemate entstehen und somit die eigentlich biologisch aktive Form nur anteilmäßig (25 bzw. 50 %) vorliegt. Celmer (1964) untersuchte die chiralen Verhältnisse des Naturprodukts 3-Cyclohexenylglycin und bestimmte es exakt als 2-(1-Cyclohexen-3-(R)-yl)-S-glycin.

3.4.1. Wirkungsspektrum

Von verschiedenen Isoleucinantagonisten wurde ein Wirkungsspektrum erstellt, wobei phytopathogene und humanpathogene Organismen besondere Beachtung fanden. Tab. 8 zeigt die MHK´s der Antagonisten in Aminosäure-, Dipeptid- und Tripeptidform. Die auffälligsten Differenzen in der MHK zwischen der Aminosäure und den Peptiden entstanden bei Bacillus subtilis. Bei 3-Cyclohexenylglycin kann man Wirkungssteigerungen von der Aminosäure zum Dipeptid (Faktor 100) und zum Tripeptid (Faktor 1000) und bei Cyclohexylglycin von der Aminosäure zum Tripeptid (Faktor 500) beobachten (Abb. 5). Hieraus leitet sich der Verdacht ab, daß die peptidartigen Isoleucinantagonisten durch Peptidtransportsysteme in der Zelle akkumuliert werden. Bei anderen grampositiven Bakterien und bei verschiedenen Pseudomonasarten sind die synthetischen Derivate inaktiv. Bei Pilzen zeigen sie keine oder als Dipeptide eine schwache Wirkung. Innerhalb der gramnegativen Bakterien kann man Wirkungssteigerungen bis zum Faktor 15 beobachten, wenn man die MHK von 3-Cyclohexenylglycin mit den MHK´s der Peptide vergleicht.
Di-(D,L)-3-cyclohexenylglycin enthält molar betrachtet die doppelte Menge Inhibitorsubstanz, wirkt aber dennoch schlechter als Ala-(D,L)-3-cyclohexenylglycin. Damit wurde ein weiteres Mal die besondere Rolle von Ala als Vehikel im Peptidtransport bestätigt.

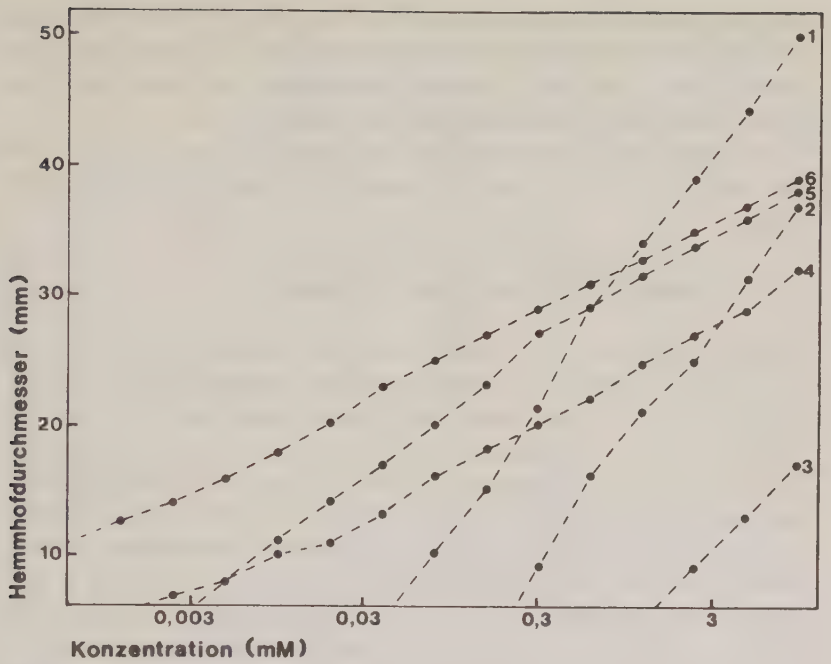


Abb. 5: Vergleich der antibakteriellen Aktivität verschiedener Isoleucinantagonisten an Bacillus subtilis auf DM-Medium im Plattendiffusionstest.

1 Ketomycin
2 3-Cyclohexenylglycin
3 Cyclohexylglycin
4 Ala-(D,L)-3-cyclohexenylglycin
5 Ala-ala-(D,L)-cyclohexylglycin
6 Ala-ala-3-cyclohexenylglycin

In keinem Fall gelang es, das biologische Wirkungsspektrum durch die Peptidhemmstoffe zu erweitern. Auch die fehlende Aktivität von Cyclohexylglycin gegen Escherichia coli, die schon von Edelson et al. (1958) beschrieben wurde, konnte durch seine Verknüpfung mit Ala-ala nicht auf gramnegative Bakterien erweitert werden. Die Unterschiede in der Spezifität der Isoleucinantagonisten bei Escherichia coli und Bacillus subtilis lassen sich vermutlich mit verschiedenen Bindungsstellen für Val und

Ile an der Threonindesaminase (Cennamo et al., 1964) erklären. Die ungesättigten zyklischen Verbindungen haben gegenüber den gesättigten eine mehr planare Ringstruktur und sind damit der ebenen Isopropylgruppe des Val ähnlicher.
Die C-terminale Anordnung des Hemmstoffs Cyclohexylglycin führte zur gleichen MHK wie seine N-terminale Stellung im Tripeptid.

3.4.2. Antagonismus- und Synergismustests

Nachdem sich die synthetischen Isoleucinantagonisten als biologisch aktiv erwiesen, mußte untersucht werden, ob sie den gleichen Wirkort wie der natürliche Isoleucinantagonist 2-(1-Cyclohexen-3-(R)-yl)-S-glycin (Keller-Schierlein et al., 1969) haben. Tab. 9 zeigt Antagonismustests der Isoleucinantagonisten mit verschiedenen Aminosäuren an Bacillus subtilis. Danach deckt sich das Aufhebungsmuster der Derivate vollständig mit dem des Naturprodukts. Nach Keller-Schierlein et al. (1969) wird die Hemmung des Naturprodukts bei Bacillus subtilis durch Homoserin, Thr, Val und Leu kompetitiv und durch Ile nichtkompetitiv antagonisiert. Cyclohexylglycin ist bisher nur als biologisch inaktiv beschrieben (Edelson et al., 1958). Da jedoch sowohl die Aminosäure als auch das Peptid die gleichen Aufhebungsmuster wie die Cyclohexenylglycinderivate zeigen, kann man als Wirkort ebenso die Threonindesaminase vermuten (vgl. auch 3.4.5.).

Die einzelnen Isoleucinantagonisten wurden untereinander auf eventuelle potenzierende Effekte getestet (vgl. 2.7.1.3.). Da Aminosäuren, Dipeptide und Tripeptide unterschiedliche Transportwege benutzen (vgl. 3.4.4.), bestand die Möglichkeit einer addierenden oder potenzierenden Akkumulation der toxischen Substanzen in der Zelle, die zu einer weiteren Erniedrigung der MHK führen sollte. Diese Untersuchungen wurden an Escherichia coli K-12 und Bacillus subtilis ausgeführt, waren jedoch alle negativ (Ergebnisse unveröffentlicht). Vermutlich reicht die Akkumulation eines Hemmstoffs über ein Transportsystem zur Entfaltung seines toxischen Effekts schon völlig aus.

Tab. 9: Antagonismustests mit verschiedenen Isoleucinantagonisten und Aminosäuren an Bacillus subtilis auf DM-Medium.

Aminosäuren 20 mM	Wachstumsantwort					
	Ketomycin 0,6 mM	3-Cyclohexenylglycin 1,25 mM	Cyclohexylglycin 10 mM	Ala-(D,L)-3-cyclohexenylglycin 0,6 mM	Ala-ala-3-cyclohexenylglycin 0,15 mM	Ala-ala-(D,L)-cyclohexylglycin 0,6 mM
Ile	+n	+n	+n	+k	+n	+n
Val	+k	+k	+k	+k	+k	+k
Thr	+k	+k	+k	+k	+k	+k
Met	-	-	-	-	-	-
Leu	+k	+n	+k	+n	+n	+k
Homoserin	+k	+k	+k	+k	+k	+k
Lys	-	-	-	-	-	-

Erklärungen: +k kompetitive Aufhebung der Hemmung
+n nichtkompetitive Aufhebung der Hemmung
- keine Aufhebung der Hemmung

3.4.3. Versuche im Biophotometer

An einer wachsenden Kultur von Escherichia coli K-12 wurde die Wirkung von Ala-ala-3-cyclohexenylglycin zu Beginn, während und am Ende der logarithmischen Wachstumsphase untersucht (Abb. 6). Die anfangs über mehrere Stunden anhaltende bakteriostatische Wirkung geht mit zunehmender Extinktion der Kultur verloren. Dieser Effekt ist einmal mit der steigenden Zellzahl im Testansatz und zum anderen mit der Wirkungsweise des Hemmstoffs zu

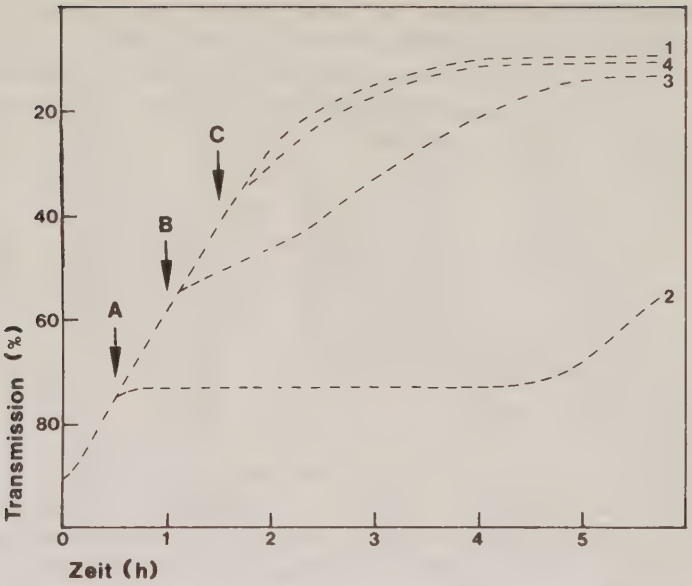


Abb. 6: Wirkung von Ala-ala-3-cyclohexenylglycin auf das Wachstum von Escherichia coli K-12 auf DM-Medium.

1 Kontrolle ohne Hemmstoff
2 Zeitpunkt A: 0,3 mM Ala-ala-3-cyclohexenylglycin
3 Zeitpunkt B: 0,3 mM Ala-ala-3-cyclohexenylglycin
4 Zeitpunkt C: 0,3 mM Ala-ala-3-cyclohexenylglycin

erklären. Abb. 7 zeigt die Abhängigkeit der Aufhebung der Hemmwirkung vom Zugabezeitpunkt der Antagonisten Ile und Ala-ala-ala. Gibt man sie gemeinsam mit dem Hemmstoff zu, so kommt es in beiden Fällen zur Aufhebung. Gibt man die Antagonisten jedoch erst nach der vollen Entfaltung der toxischen Wirkung von Ala-ala-3-cyclohexenylglycin zu, so antagonisiert nur noch Ile. Damit ist ein weiterer Beweis erbracht, daß die Konkurrenz zwischen dem Hemmstoff und Ala-ala-ala auf der Ebene der Aufnahme und nicht am Wirkort zu suchen ist (vgl. 3.4.4.).

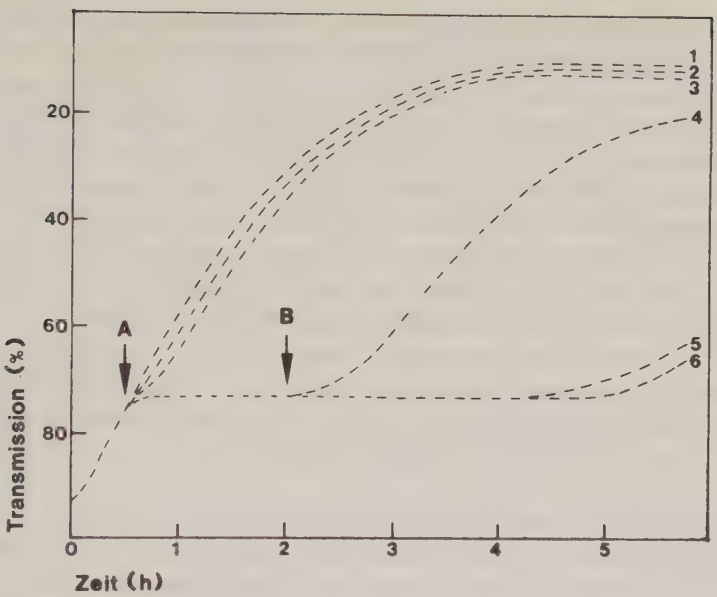


Abb. 7: Aufhebung der Hemmwirkung von Ala-ala-3-cyclohexenylglycin durch Ile und Ala-ala-ala an Escherichia coli K-12 auf DM-Medium in Abhängigkeit vom Zeitpunkt der Zugabe.

1 Kontrolle ohne Hemmstoff
2 Zeitpunkt A: 0,3 mM Ala-ala-3-cyclohexenylglycin und 0,3 mM Ile
3 Zeitpunkt A: 0,3 mM Ala-ala-3-cyclohexenylglycin und 1,2 mM Ala-ala-ala
4 Zeitpunkt A: 0,3 mM Ala-ala-3-cyclohexenylglycin
Zeitpunkt B: 0,3 mM Ile
5 Zeitpunkt A: 0,3 mM Ala-ala-3-cyclohexenylglycin
Zeitpunkt B: 1,2 mM Ala-ala-ala
6 Zeitpunkt A: 0,3 mM Ala-ala-3-cyclohexenylglycin

3.4.4. Wirkung auf transportdefekte Mutanten

Mit transportdefekten Mutanten von Escherichia coli K-12 und Bacillus subtilis (vgl. 2.4.3.) wird der aktive Eintransport peptidartiger Isoleucinantagonisten gezeigt. Einmal werden damit neue Beispiele für den Mißbrauch von Peptidtransportsystemen durch Hemmstoffe beschrieben, zum anderen soll damit ein Beitrag

zu der Frage nach den strukturellen Erfordernissen für eine Aufnahme von Substraten via opt, via dpt bzw. via opt und dpt in Bakterien geleistet werden. Die Tabellen 10 und 11 fassen die Ergebnisse der Antagonismustests mit Peptiden an den einzelnen Mutanten zusammen. Bei Escherichia coli K-12 (Tab. 10) findet man, daß das Dipeptid Ala-(D,L)-3-cyclohexenylglycin über opt und dpt in die Zelle gelangt, eine Aufnahme über eine der beiden Permeasen jedoch schon ausreicht (vgl. 3.5.). 3-Cyclohexenylglycin wurde als Kontrolle ebenfalls untersucht, zeigte jedoch erwartungsgemäß keine Aufhebungsmuster. Das Tripeptid Ala-ala-3-cyclohexenylglycin ist bei den Mutanten A und B unwirksam. Dadurch und durch das typische Aufhebungsmuster beim Wildtyp und der Mut. C ist seine ausschließliche Aufnahme via opt hinreichend bewiesen.

Im Gegensatz zu Escherichia coli K-12 ist die Aufnahme von kleinen Peptiden durch Bacillus subtilis noch nicht untersucht. Eine von Diddens (1979) isolierte Mutante (BsPR) zeigte keine Kreuzresistenz gegen Tripeptidantibiotika und wurde nicht gegen toxische Dipeptide getestet. Außerdem schlossen Aufhebungsmuster mit Tripeptiden einen Defekt im Transportsystem aus. Die hohe Empfindlichkeit von Bacillus subtilis gegen peptidartige Hemmstoffe (vgl. 3.4.1.) und die schon häufig beschriebene Empfindlichkeit gegen kleine Peptidantibiotika (Gugel, 1971; Pruess et al., 1973; 1974; Scannell et al., 1975; Argoudelis et al., 1976; Kondo et al., 1977; Diddens, 1979) ließen Analogien zum Peptidtransport in Escherichia coli K-12 vermuten. Tab. 11 zeigt die Aufhebungsmuster zwischen verschiedenen Isoleucinantagonisten und natürlichen Peptiden bei Bacillus subtilis. Die Mutante A ist kreuzresistent gegen alle toxischen Tripeptide, behält jedoch ihre Empfindlichkeit gegenüber dem Dipeptid Ala-(D,L)-3-cyclohexenylglycin. Die Aufhebungsmuster der natürlichen Peptide sind völlig analog denen bei Escherichia coli K-12 (Tab. 10). Bacillus subtilis scheint also ebenfalls opt und dpt zu besitzen, die ähnliche strukturelle Anforderungen an ihre Substrate stellen. Bei beiden Organismen heben Ala-D-ala, D-Ala-ala, D-Ala-D-ala und ß-Ala-ala die Wirkung toxischer Dipeptide nicht

Tab. 10: Antagonismustests zwischen Isoleucinantagonisten und Peptiden an transportdefekten Mutanten und dem Wildtyp von Escherichia coli K-12 auf DM-Medium.

Peptide (20 mM)	Wachstumsantwort							
	Ala-(D,L)-3-cyclohexenylglycin 0,6 mM				Ala-ala-3-cyclohexenylglycin 0,6 mM			
	wt	Mutante A	B	C	wt	Mutante A	B	C
Ala-ala	+	+	o	-	-	o	o	-
Ala-D-ala	-	-	o	-	-	o	o	-
D-Ala-ala	-	-	o	-	-	o	o	-
D-Ala-D-ala	-	-	o	-	-	o	o	-
ß-Ala-ala	-	-	o	-	-	o	o	-
Ala-gly	+	+	o	-	-	o	o	-
Gly-ala	+	+	o	-	-	o	o	-
Ala-ser	+	+	o	-	-	o	o	-
Tyr-tyr	+	+	o	-	-	o	o	-
Ser-ala	+	+	o	-	-	o	o	-
Gly-gly	+	+	o	-	-	o	o	-
Met-met	+	+	o	-	-	o	o	-
Ala-ala-ala	F	F	o	+	+	o	o	+
Ala-ala-D-ala	F	F	o	+	+	o	o	+
Ala-D-ala-ala	-	-	o	-	-	o	o	-
D-Ala-D-ala-D-ala	-	-	o	-	-	o	o	-
Gly-gly-ala	-	-	o	+	+	o	o	+
Gly-gly-gly	-	-	o	+	+	o	o	+
Lys-lys-lys	-	-	o	+	+	o	o	+
Tyr-tyr-tyr	-	-	o	+	+	o	o	+
Glutathion	-	-	o	-	-	o	o	-
Met-met-met	+	+	o	+	+	o	o	+
Ala-ala-ala-ala	-	-	o	+	+	o	o	+
Phe-phe-phe-phe	-	-	o	+	+	o	o	+
Penta-Ala	-	-	o	+	+	o	o	+

Erklärungen:
+ Aufhebung der Hemmung
- keine Aufhebung der Hemmung
o keine Hemmung
F Förderung der Hemmung

Tab. 11: Antagonismustests zwischen Isoleucinantagonisten und Peptiden an Mut. A und dem Wildtyp von Bacillus subtilis auf DM-Medium.

Peptide (20 mM)	Wachstumsantwort							
	Ala-(D,L)-3-cyclohexenylglycin 0,6 mM		Ala-ala-3-cyclohexenylglycin 0,15 mM		Ala-ala-(D,L)-cyclohexylglycin 0,6 mM		(D,L)-Cyclohexylglycyl-ala-ala 0,6 mM	
	wt	Mut.A	wt	Mut.A	wt	Mut.A	wt	Mut.A
Ala-ala	+	+	-	o	-	o	-	o
Ala-D-ala	-	-	-	o	-	o	-	o
D-Ala-ala	-	-	-	o	-	o	-	o
D-Ala-D-ala	-	-	-	o	-	o	-	o
ß-Ala-ala	-	-	-	o	-	o	-	o
Ala-gly	+	+	-	o	-	o	-	o
Gly-ala	+	+	-	o	-	o	-	o
Ala-ser	E	E	E	E	E	E	E	E
Tyr-tyr	+	+	-	o	-	o	-	o
Ser-ala	E	E	E	E	E	E	E	E
Gly-gly	+	+	-	o	-	o	-	o
Met-met	+	+	-	o	-	o	-	o
Ala-ala-ala	-	-	+	o	+	o	+	o
Ala-ala-D-ala	-	-	+	o	+	o	+	o
Ala-D-ala-ala	-	-	-	o	-	o	-	o
D-Ala-D-ala-D-ala	-	-	-	o	-	o	-	o
Gly-gly-ala	-	-	+	o	+	o	+	o
Gly-gly-gly	-	-	+	o	+	o	+	o
Lys-lys-lys	-	-	+	o	+	o	+	o
Tyr-tyr-tyr	-	-	+	o	+	o	+	o
Glutathion	-	-	-	o	-	o	-	o
Met-met-met	-	-	+	o	+	o	+	o
Ala-ala-ala-ala	-	-	+	o	+	o	+	o
Phe-phe-phe-phe	-	-	+	o	+	o	+	o
Penta-Ala	-	-	+	o	+	o	+	o

Erklärungen:
+ Aufhebung der Hemmung
- keine Aufhebung der Hemmung
o keine Hemmung
E Eigenhemmung des Peptides

auf. LL-Stereospezifität des Peptids sowie eine α-ständige Aminogruppe der Aminosäureuntereinheiten scheinen notwendig. Auch Ala-D-ala-ala, D-Ala-D-ala-D-ala und Glutathion zeigen in beiden Fällen keine Aufhebungsmuster zu toxischen Tripeptiden. Das spricht für eine essentielle Rolle der LLL- bzw. LLD-Stereospezifität sowie der α-Peptidbindung. Glutathion enthält eine γ-Peptidbindung.

3.4.5. Versuche mit der Threonindesaminase

Keller-Schierlein et al. (1969) und Krüpe & Poralla (1972) untersuchten die Hemmung von 3-Cyclohexenylglycin auf die Threonindesaminase und die Isoleucyl-t-RNA-synthetase aus Bacillus subtilis. Sie fanden, daß 3-Cyclohexenylglycin die Threonindesaminase kompetitiv hemmt und daß die Isoleucyl-t-RNA-synthetase auch bei hohen Hemmstoffkonzentrationen nur unbedeutend gehemmt ist. Die Wirkung von 3-Cyclohexenylglycin auf Bacillus subtilis wurde als "falsche" feedback-Hemmung (Umbarger & Brown, 1958; Umbarger & Davis, 1962) diskutiert.
Da 3-Cyclohexenylglycin und die verwandten Isoleucinantagonisten gegen Hefen und Pilze nahezu unwirksam waren (Tab. 8), die Entwicklung neuer antifungischer Hemmstoffe aber von besonderer Bedeutung ist, wurde die Threonindesaminase aus dem Hefestamm Saccharomyces cerevisiae αS 288 C für Wirkortstudien isoliert. Es sollte geklärt werden, ob auch bei Eukaryonten eine Hemmung dieses Enzyms möglich ist. In einem solchen Fall läge die Vermutung nahe, daß der Hemmstoff nur nicht zum Wirkort gelangt.

Ile ist ein spezifischer und sehr aktiver Hemmstoff der Threonindesaminase bei Escherichia coli (Umbarger, 1956; Changeux, 1962) und bei Hefen (Holzer et al., 1963). DeRobichon-Szulmajster & Magee (1968) fanden, daß die Threonindesaminase aus Saccharomyces cerevisiae in ihren physikalischen und chemischen Eigenschaften dem analogen Enzym aus Bakterien gleich ist.
Abb. 8 zeigt die Hemmung dieses Enzyms aus Saccharomyces cerevisiae durch verschiedene Isoleucinantagonisten und Ile. 3-Cyclohexenylglycin zeichnet sich auch hier als ein guter Hemmstoff

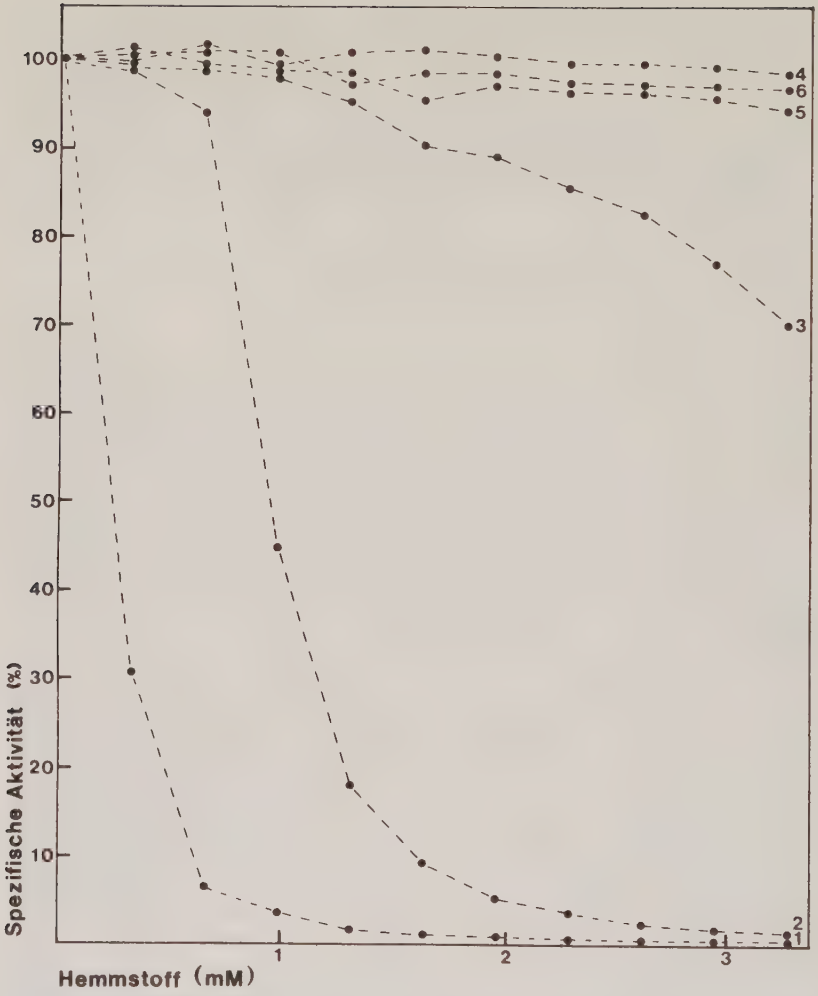


Abb. 8: Hemmung der Threonindesaminase aus Saccharomyces cerevisiae durch verschiedene Hemmstoffe.

1 Ile (Kontrolle)
2 3-Cyclohexenylglycin
3 Cyclohexylglycin
4 Ketomycin
5 Ala-(D,L)-3-cyclohexenylglycin
6 Ala-ala-3-cyclohexenylglycin

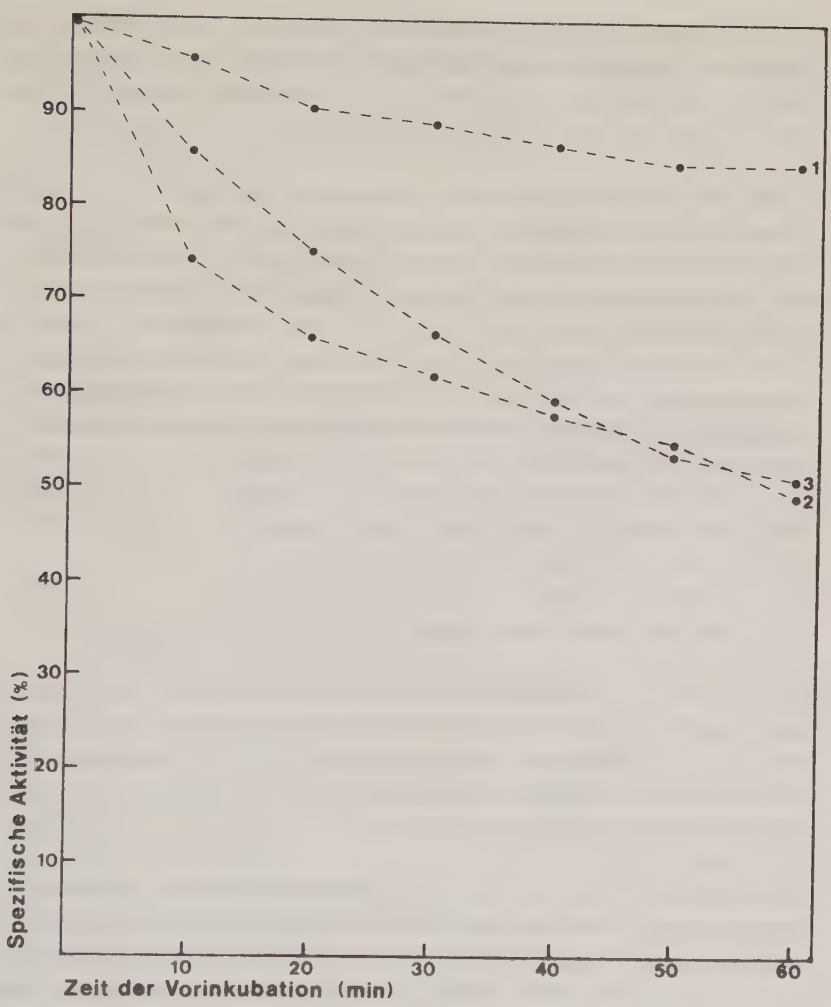


Abb. 9: Hemmung der Threonindesaminase aus Saccharomyces cerevisiae in Abhängigkeit von der Dauer der Vorinkubation.

1 Kontrolle ohne Hemmstoff
2 1,32 mM Ala-(D,L)-3-cyclohexenylglycin
3 1,32 mM Ala-ala-3-cyclohexenylglycin

aus. Der Hemmungsindex gegenüber Ile beträgt etwa 0,5. Cyclohexylglycin wirkt ebenfalls hemmend, jedoch weitaus schwächer mit einem Hemmungsindex von etwa 0,05 im Vergleich zu Ile. Ketomycin und die zwei peptidförmigen Hemmstoffe sind unwirksam.

Da die Threonindesaminase als Rohextrakt vorlag, wurde die Abhängigkeit der Aktivität der peptidartigen Hemmstoffe von der Dauer der Vorinkubation ebenfalls untersucht. Abb. 9 gibt die zeitabhängige Veränderung der spezifischen Aktivität wieder. Erwartungsgemäß nimmt auch die Aktivität beim Kontrollansatz ab, da die Threonindesaminase durch Proteasen inaktiviert wird. Dennoch zeigt sich eine signifikante Differenz zur Abnahme der spezifischen Aktivität beim Vorhandensein von peptidartigen Hemmstoffen. Saccharomyces cerevisiae scheint also auch intrazelluläre Peptidasen zu besitzen, die geeignet sind, den Hemmstoff aus einem Di- bzw. aus einem Tripeptid freizusetzen.

3.5. Untersuchungen zum Transport von Dipeptidhemmstoffen

In Fortführung der Transportstudien von Diddens et al. (1976) an Tripeptidantibiotika wurde die Aufnahme von Dipeptidantibiotika in die Zellen von Escherichia coli K-12 untersucht. Getestet wurden natürliche Dipeptidantibiotika und gezielt synthetisierte peptidartige Hemmstoffe.

Alaphosphin ist ein synthetisches Phosphorsäureanalogon von Ala-ala und wirkt als Enzyminhibitor auf die Alaninracemase und schwächer auf die UDP-N-Acetylmuramyl-L-alaninligase (Hassall et al., 1977; Ringrose et al., 1977). Beide Enzyme spielen eine Schlüsselrolle in der bakteriellen Zellwandbiosynthese.

Bacilysin wurde während eines Screenings nach Hemmstoffen der Hyaluronsäurekapselbildung bei Streptococcus pyogenes gefunden und erwies sich als ein guter in vivo-Hemmstoff der Glucosaminsynthetase (Kenig & Abraham, 1976; Kenig et al., 1976). Bacilysin enthält das als Naturprodukt schon länger bekannte Anticapsin (Shah et al., 1970; Boeck et al., 1971), das ein guter in

vitro-Hemmstoff der Glucosaminsynthetase ist (Kenig et al., 1976). Bacilysin ist mit Tetain identisch, dessen Transport via Dipeptidcarrier in Staphylococcus aureus postuliert wurde (Chmara & Borowski, 1973).

Ala-3(α-chlor-3-hydroxy-2-oxo-3-azetidinylmethyl)-ala ist dem Tabtoxin (Taylor et al., 1972), einem Hemmstoff der Glutaminsynthetase (Sinden & Durbin, 1968), strukturell sehr ähnlich. Seine toxische Wirkung kann, ebenso wie die von Tabtoxin, durch Glu-NH_2 aufgehoben werden (Scannell et al., 1975).

1-Hydroxy-2-valylamidocyclobutan-1-essigsäure ist ein Dipeptid aus einer unidentifizierten Streptomycetenart, dessen Wirkung teilweise durch Cys-SH aufgehoben werden kann (Pruess et al., 1974).

Die zwei cyclohexenylglycinhaltigen Dipeptide wurden von Herrn Prof. Dr. S.I. Sallay als Isoleucinantagonisten synthetisiert.

Nach Payne & Gilvarg (1978) läßt sich der Transport von Peptiden durch direkte und indirekte Methoden messen. Mit radioaktiv markierten Peptiden, mit chemischen Bestimmungen (Fluorescamin als Detektor) und mit Fluoreszenzderivaten kann die Transportrate direkt bestimmt werden. Mißt man dagegen die biologische Antwort der Zelle als Ergebnis der Peptidaufnahme, so kommen für diese indirekten Messungen Kompetitionsstudien, Wachstumsmessungen, toxische Peptide, Enzymsynthese und Radioisotopeneinbau in Frage. Der Gebrauch toxischer Peptide zur Isolation transportdefekter Mutanten ist ebenfalls gebräuchlich (Gilvarg & Levin, 1972; VonderHaar & Umbarger, 1972; Claus, 1973; DeFelice et al., 1973). Es schien sinnvoll, die Aufnahme von Dipeptidantibiotika und weiterer Hemmstoffe auf Dipeptidbasis an Escherichia coli K-12 zu untersuchen, da dessen Peptidtransportsysteme eingehend charakterisiert sind (Payne & Gilvarg, 1978). Zur Anwendung kam dabei eine Kombination zweier indirekter Meßmethoden. Mit transportdefekten Mutanten (vgl. 2.4.3.) und dem Wildtyp von Escherichia coli K-12 wurden Antagonismustests durchgeführt. Es war zu klären, ob Dipeptidantibiotika über Peptid-

Tab. 12: Antagonismustests mit verschiedenen Hemmstoffen und Peptiden an Escherichia coli K-12 auf DM-Medium.

Peptide (20 mM)	Wachstumsantwort											
	Alaphosphin 2,0 mM				Bacilysin 0,02 mM				Ala-3(α-chlor-3-hydroxy-2-oxo-3-azetidinylmethyl)-ala 0,2 mM			
	wt	Mutante A	B	C	wt	Mutante A	B	C	wt	Mutante A	B	C
Ala-ala	+	+	o	o	+	+	o	-	+	+	o	-
Ala-D-ala	-	-	o	o	-	-	o	-	-	-	o	-
D-Ala-ala	-	-	o	o	-	-	o	-	-	-	o	-
D-Ala-D-ala	-	-	o	o	-	-	o	-	-	-	o	-
ß-Ala-ala	-	-	o	o	-	-	o	-	-	-	o	-
Ala-gly	+	+	o	o	+	+	o	-	+	+	o	-
Gly-ala	+	+	o	o	+	+	o	-	+	+	o	-
Ala-ser	+	+	o	o	+	+	o	-	+	+	o	-
Tyr-tyr	+	+	o	o	+	+	o	-	+	+	o	-
Ser-ala	+	+	o	o	+	+	o	-	+	+	o	-
Gly-gly	+	+	o	o	+	+	o	-	+	+	o	-
Met-met	+	+	o	o	+	+	o	-	+	+	o	-
Ala-ala-ala	-	-	o	o	-	-	o	+	-	-	o	+
Ala-ala-D-ala	-	-	o	o	-	-	o	+	-	-	o	+
Ala-D-ala-ala	-	-	o	o	-	-	o	-	-	-	o	-
D-Ala-D-ala-D-ala	-	-	o	o	-	-	o	-	-	-	o	-
Gly-gly-ala	-	-	o	o	-	-	o	+	-	-	o	+
Gly-gly-gly	-	-	o	o	-	-	o	+	-	-	o	+
Lys-lys-lys	-	-	o	o	-	-	o	+	-	-	o	+
Tyr-tyr-tyr	-	-	o	o	-	-	o	+	-	-	o	+
Glutathion	-	-	o	o	-	-	o	-	-	-	o	-
Met-met-met	-	-	o	o	-	-	o	+	-	-	o	+
Ala-ala-ala-ala	-	-	o	o	-	-	o	+	-	-	o	+
Phe-phe-phe-phe	-	-	o	o	-	-	o	+	-	-	o	+
Penta-Ala	-	-	o	o	-	-	o	+	-	-	o	+

Fortsetzung von Tab. 12:

Peptide (20 mM)	Wachstumsantwort											
	1-Hydroxy-2-valylamido-cyclobutan-1-essigsäure 4,0 mM				Ala-(D,L)-3-cyclohexenyl-glycin 0,6 mM				Di-(D,L)-3-cyclohexenyl-glycin 2,5 mM			
	wt	Mutante A	B	C	wt	Mutante A	B	C	wt	Mutante A	B	C
Ala-ala	+	+	F	+	+	+	o	-	+	+	o	-
Ala-D-ala	-	-	o	-	-	-	o	-	-	-	o	-
D-Ala-ala	-	-	o	-	-	-	o	-	-	-	o	-
D-Ala-D-ala	-	-	o	-	-	-	o	-	-	-	o	-
ß-Ala-ala	-	-	o	-	-	-	o	-	-	-	o	-
Ala-gly	-	-	o	-	+	+	o	-	+	+	o	-
Gly-ala	-	-	o	-	+	+	o	-	+	+	o	-
Ala-ser	-	-	o	-	+	+	o	-	+	+	o	-
Tyr-tyr	-	-	o	-	+	+	o	-	+	+	o	-
Ser-ala	-	-	o	-	+	+	o	-	+	+	o	-
Gly-gly	-	-	o	-	+	+	o	-	+	+	o	-
Met-met	+	+	F	+	+	+	o	-	+	+	o	-
Ala-ala-ala	+	+	F	+	F	F	o	+	F	F	o	+
Ala-ala-D-ala	+	+	F	+	F	F	o	+	F	F	o	+
Ala-D-ala-ala	-	-	o	-	-	-	o	-	-	-	o	-
D-Ala-D-ala-D-ala	-	-	o	-	-	-	o	-	-	-	o	-
Gly-gly-ala	-	-	o	-	-	-	o	+	-	-	o	+
Gly-gly-gly	-	-	o	-	-	-	o	+	-	-	o	+
Lys-lys-lys	-	-	o	-	-	-	o	+	-	-	o	+
Tyr-tyr-tyr	-	-	o	-	-	-	o	+	-	-	o	+
Glutathion	-	-	o	-	-	-	o	-	-	-	o	-
Met-met-met	+	+	F	+	+	+	o	+	+	+	o	+
Ala-ala-ala-ala	-	-	o	-	-	-	o	+	-	-	o	+
Phe-phe-phe-phe	-	-	o	-	-	-	o	+	-	-	o	+
Penta-Ala	-	-	o	-	-	-	o	+	-	-	o	+

Erklärungen:
+ Aufhebung der Hemmung
- keine Aufhebung der Hemmung
o keine Hemmung
F Förderung der Hemmung

transportsysteme in die Zellen gelangen und ob sie ausschließlich über dpt bzw. über opt oder über beide Permeasen gleichwertig aufgenommen werden. Bei der Interpretation der Ergebnisse von Tab. 12 erweist es sich als kompliziert, daß Dipeptide über die zwei verschiedenen Systeme dpt und opt in die Zellen gelangen können, sofern sie die strukturellen Erfordernisse dazu erfüllen. Zur Klärung dieser Frage sollten die einzelnen transportdefekten Mutanten dienen.

Die unterschiedlichen Wachstumsantworten der Mutanten A, B und C auf die einzelnen Dipeptide lassen keine generellen alle Dipeptidhemmstoffe betreffenden Aussagen zu. Nahezu gleiche Aufhebungsmuster zeigen Bacilysin, Ala-3(α-chlor-3-hydroxy-2-oxo-3-azetidinylmethyl)-ala und die zwei Cyclohexenylglycinderivate. Alle Dipeptide mit einer LL-Konfiguration und α-Aminogruppe antagonisieren beim Wildtyp und der Mut. A die Hemmung vollständig. Die Mut. B ist kreuzresistent gegen diese vier Hemmstoffe. Die in der dpt defekte Mut. C zeigt keine Kompetition mehr gegen Dipeptide; dafür entstehen Aufhebungsmuster mit Oligopeptiden, die nicht zu beobachten sind, wenn die dpt funktionstüchtig ist. Ala-D-ala-ala, D-Ala-D-ala-D-ala, Ala-D-ala, D-Ala-ala, D-Ala-D-ala, ß-Ala-ala und Glutathion zeigten auch hier keine Kompetition, da diese Peptide bei Escherichia coli K-12 die generellen Transportsysteme dpt und opt nicht oder nur wenig benutzen (Payne, 1972; Payne & Gilvarg, 1978). Zusammenfassend kann man sagen, daß diese vier Hemmstoffe sowohl die dpt als auch die opt zum Eintransport benutzen können, daß jedoch für die Entfaltung einer toxischen Wirkung schon die Aufnahme über eine der beiden Permeasen genügt.

Alaphosphin fällt durch die fehlende Wirkung gegen die Mut. C auf. Ob es sich hierbei um eine zusätzliche Wirkortresistenz oder um eine fehlende Aufnahme via opt handelt, ist ungeklärt. Das Dipeptidantibiotikum 1-Hydroxy-2-valylamidocyclobutan-1-essigsäure, das eine C-terminale γ-Carboxylgruppe besitzt, wirkt vermutlich toxisch auf die Biosynthese schwefelhaltiger Aminosäuren (Pruess et al., 1974). Nach Payne & Gilvarg (1978) erfüllt diese Verbindung die Anforderungen für eine Aufnahme via dpt nur ungenügend. Vielleicht läßt sich damit die differierende Empfindlichkeit von Wildtyp und Mut. A (Diddens et al., 1979) gegen diese Verbindung erklären.

3.6. Untersuchungen an p-Aminobenzoesäureantagonisten

Unter Einbeziehung der Kenntnisse über ein induzierbares Polyamintransportsystem bei Escherichia coli K-12 (Tabor & Tabor, 1966; Munro et al., 1974) wurden Polyamine für einen Einsatz als Vehikel geprüft. Herr Prof. Dr. W. Keller-Schierlein synthetisierte vier Sulfanilamid enthaltende Polyaminderivate (vgl. 2.1.4.), die auf ihre antibakterielle Wirkung sowie ihren Aufnahmeweg untersucht wurden. Sulfanilamid und Sulfacetamid dienten dabei als Vergleichssubstanzen.

Tab. 13 zeigt die MHK´s der vier Derivate im Vergleich zu herkömmlichen Sulfonamiden. Da über die Verbreitung eines oder mehrerer Polyamintransportsysteme bei Bakterien noch nichts bekannt ist, wurden zwei grampositive und zwei gramnegative Bakterien getestet. Alle vier Derivate zeigen antibiotische Aktivitäten, hervorzuheben ist aber das SP IV, dessen MHK mit den Vergleichssubstanzen konkurrieren kann bzw. sie bei Staphylococcus aureus sogar übertrifft.

Obwohl die erhaltenen Hemmkonzentrationen kaum für ein aktives Transportgeschehen sprechen, wurden Antagonismusstudien an Bacillus subtilis durchgeführt (Tab. 14). Dazu testete man die Syntheseprodukte jeweils in der doppelten Konzentration der MHK

Tab. 13: Bestimmung der minimalen Hemmkonzentrationen von SP I bis SP IV bei verschiedenen Testorganismen im Verdünnungsreihentest. Vergleichssubstanzen sind Sulfacetamid (V_1) und Sulfanilamid (V_2).

	Escherichia coli K-12		Escherichia coli B		Bacillus subtilis		Staphylococcus aureus	
	DM-Medium		DM-Medium		DM-Medium		SA-Medium	
SP	mM	µg/ml	mM	µg/ml	mM	µg/ml	mM	µg/ml
I	3,92	1600	3,92	1600	0,49	200	3,92	1600
II	4,85	1600	4,85	1600	0,61	200	2,42	800
III	>5,06	>1600	>5,06	>1600	1,27	400	5,06	1600
IV	0,19	100	1,52	800	0,05	25	0,09	50
V_1	0,06	12,5	0,93	200	0,01	3,13	0,03	6,25
V_2	0,15	25	2,32	400	0,04	6,25	0,29	50

Tab. 14: Untersuchungen zur Aufnahme und zur Wirkung von SP I bis SP IV bei Bacillus subtilis auf DM-Medium im Verdünnungsreihentest. Vergleichssubstanzen sind Sulfacetamid (V_1) und Sulfanilamid (V_2).

SP	Konz. im Test (mM)	Aufhebung der Hemmung durch												
		p-Aminobenzoesäure (mM)				Spermidin (mM)					Putrescin (mM)			
		1,6	0,8	0,4	0,2	3,2	1,6	0,8	0,4	0,2	3,2	1,6	0,8	0,4
I	0,98	+	+	(+)	-	+	+	+	+	-	-	-	-	-
II	1,21	+	+	-	-	(+)	-	-	-	-	+	+	-	-
III	2,53	+	-	-	-	(+)	-	-	-	-	+	-	-	-
IV	0,09	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-
V_1	0,03	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-
V_2	0,07	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-

Erklärungen: - keine Aufhebung der Hemmung
(+) schwache Aufhebung der Hemmung
\+ Aufhebung der Hemmung

Tab. 15: Versuch der Induktion eines generellen Polyamintransportsystems mit Streptomycin bei Escherichia coli K-12 auf DM-Medium. Vergleichssubstanzen sind Sulfacetamid (V_1) und Sulfanilamid (V_2).

SP	Minimale Hemmkonzentrationen von SP I bis SP IV (in mM) bei Zusatz von Streptomycin						
	Streptomycinkonzentration (in µg/ml)						Kontrolle
	5,0	2,5	1,25	0,62	0,31	0,15	0
I	0	0	3,92	3,92	3,92	3,92	3,92
II	0	0	4,85	4,85	4,85	4,85	4,85
III	0	0	>5,06	>5,06	>5,06	>5,06	>5,06
IV	0	0	0,19	0,19	0,19	0,19	0,19
V_1	0	0	0,06	0,06	0,06	0,06	0,06
V_2	0	0	0,15	0,15	0,15	0,15	0,15

gegen verschiedene Konzentrationen an Spermidin und Putrescin. Es fällt auf, daß SP I und SP IV nur von Spermidin bzw. SP II und SP III besser durch Putrescin antagonisiert werden. Tab. 14 zeigt außerdem noch den Antagonismus von p-Aminobenzoesäure auf die Syntheseprodukte sowie auf die Vergleichssubstanzen. Da in

allen Fällen die Hemmung aufgehoben wird, darf man die Derivate als p-Aminobenzoesäureantagonisten bezeichnen und als ihren Wirkort die Folsäurebiosynthese annehmen (Brown, 1962; Anand, 1975).

Durch Transportstudien an Escherichia coli K-12 (Höltje, 1978; 1979a; 1979b) wurde gefunden, daß das Polyamintransportsystem nur schlechte K_I-Werte aufweist, jedoch durch sein eigenes Substrat bzw. mißbräuchlich durch Aminoglycosidantibiotika induziert werden kann. Bei einer Vorinkubation mit Streptomycin fand Höltje (1979a) einen 10-fach vergrößerten Spermidin- und einen 2-fach vergrößerten Putrescintransport. Tab. 15 zeigt den Versuch, mit steigenden Konzentrationen an Streptomycin eine Induktion des Transportsystems zu erreichen, um dadurch die MHK´s der einzelnen p-Aminobenzoesäureantagonisten zu senken. Dieser Versuch blieb erfolglos. In subletalen Konzentrationen an Streptomycin (1,25 bis 0,15 µg/ml) unterscheiden sich die Hemmkonzentrationen nicht vom Kontrollansatz ohne Streptomycin. Ab 2,5 µg/ml Streptomycin wirkte der Induktor selbst toxisch.

4. D I S K U S S I O N

4.1. Antibiotika aus Tü 97 und Tü 1606

X-97

Nach Möller (1971) produziert Streptomyces fradiae (Tü 97) zwei ineinander umwandelbare Antibiotika mit Peptidcharakter. Die eine Substanz zeigte Aktivität gegen Bacillus subtilis, während die andere nur gegen Escherichia coli aktiv war. Für beide Substanzen wurde der Verdacht ausgesprochen, daß es sich um Hemmstoffe der Glutaminsynthetase handelt. Erste Untersuchungen zur Struktur an einer aktiven Fraktion orientierten dann auf ein Tetrapeptid.

In unserem Screening nach Hemmstoffen mit Peptidcharakter fiel Tü 97 durch seine Unwirksamkeit gegen Escherichia coli K-12 Mut. B auf. Deshalb wurden die Untersuchungen an diesem Antibiotikum erneut aufgenommen. Dabei konnten viele Ergebnisse reproduziert werden. Der Verdacht auf einen Hemmstoff der Glutaminsynthetase bestätigte sich (Shapiro & Stadtman, 1970; Möller, 1971). Ebenso konnte die Aktivität gegen Escherichia coli gefunden werden. Die von Möller (1971) beschriebene Aktivität gegen Bacillus subtilis war jedoch in keiner Phase der Fermentation bzw. der Aufarbeitung von X-97 auffindbar. Auch die aktive Substanz X-97-modifiziert war biologisch inaktiv gegen Bacillus subtilis.

Insgesamt besitzt X-97 ein enges biologisches Wirkungsspektrum gegen gramnegative Bakterien und einzelne Pilze. Grampositive Bakterien werden nicht gehemmt. Es liegt in der Natur der Aminosäureantagonisten begründet, daß sie nur auf Medien ohne Aminosäuren ihre toxische Wirkung entfalten können. Die Anzucht von vielen interessanten Teststämmen scheitert jedoch gerade an zum Teil recht komplexen Medienansprüchen dieser Organismen. Es sollten deshalb zukünftig neue Testmethoden entwickelt werden, die diesen Widerspruch beseitigen. Dann könnte ein breiteres Spektrum phyto- und humanpathogener Organismen untersucht werden.

Durch verschiedene Untersuchungen konnte die Aufnahme von X-97 über beide Peptidtransportsysteme von Escherichia coli K-12 nachgewiesen werden. Dabei verhielt sich X-97 wie ein gewöhnliches Dipeptid.

Die nach wie vor problematische Reinigung von X-97, die ständige Umlagerung und Gleichgewichtseinstellung zu X-97-modifiziert sowie die mangelhafte Stabilität vor allem im alkalischen Milieu, führten auch bei diesen neuen Untersuchungen nicht zur vollständigen Aufklärung der Struktur. Die ersten vorsichtigen Interpretationen der chemischen Analysen decken sich jedoch gut mit den biologischen Daten. Es sollte sich bei X-97 um ein Dipeptid handeln, das als AS-Untereinheiten 1 Mol Ala und ein weiteres Mol einer neutralen glutaminanalogen Aminosäure besitzt. Damit stellt sich die Frage, ob X-97 eventuell mit einem anderen natürlichen Hemmstoff von Glu-NH_2 bzw. Glu-COOH identisch sein könnte. Tab. 16 faßt alle bekannten Naturstoffe dieses Typs zusammen. Der Verdacht auf Tabatoxinin als Dipeptid verknüpft (Tabtoxin) wurde mit biologischen Daten (Wirkungsspektrum) und der auf das Dipeptid Ala-3(α-chlor-3-hydroxy-2-oxo-3-azetidinylmethyl)-ala (Ro 7-7962) durch dünnschichtchromatografischen Vergleich widerlegt. Damit kann X-97 als ein neuer Glutaminantagonist mit Dipeptidcharakter aufgefaßt werden. Eine weitere Untersuchung wird jedoch auf Grund der o.g. Probleme nicht empfohlen.

X-1606

Der zweite natürliche Hemmstoff mit Peptidcharakter (X-1606) wurde aus Streptomyces violaceoniger (Tü 1606) isoliert. Er zeigt gegen die Wildtypen von Escherichia coli K-12 und Bacillus subtilis beachtenswerte MHK´s, ist jedoch gegen die Mut. A beider Teststämme biologisch inaktiv. Dieser Differenztest gestattete den Verdacht, daß X-1606 ein Hemmstoff mit Oligopeptidcharakter ist. Durch verschiedene Untersuchungen bestätigte sich diese Aussage. Obwohl die opt von Escherichia coli Peptide bis zu einer Kettenlänge von 5 AS-Untereinheiten transportiert (Payne & Gilvarg, 1968), sind bisher nur natürliche Di- und

Tab. 16: Übersicht über natürlich vorkommende Hemmstoffe von Glu-COOH und Glu-NH_2.

Hemmstoff	Quelle	AS	DP	TP	Literatur
Azaserin	S. fragilis	x			Stock et al., 1954
DON	S. ambofaciens; S. spec.	x		xx†)	Clarke et al., 1956; DeVoe et al., 1957; Rao et al., 1960
N-Acetyl-DON	S. ambofaciens	x			Rao, 1962
SF-1293 B	S. hygroscopicus; S. spec.	x			Inouye et al., 1975
ohne Namen	Nannizzia gypsea	x			Zähner, 1979
Tabatoxinin	P. tabaci; P. spec.		x		Lamar et al., 1969
Ro 7-7962	S. spec. S. spec.		x		Scannell et al., 1975
PTC	S. hygroscopicus S. viridochromogenes			x	Bayer et al., 1972; Niida et al., 1974
MSI	Maiskleber	x			Ronzio et al., 1969
PMS	S. spec.			x	Pruess et al., 1973
X-97	S. fradiae		x		Möller, 1971
X-1606	S. violaceoniger			x	-

†) Vorkommen als Alazopeptin und als Duazomycin B.

Tripeptidhemmstoffe gefunden worden. Tab. 16 bringt eine Übersicht über Hemmstoffe dieses Typs, die durch Glu-NH_2 und Glu-COOH antagonisiert werden. Da X-1606 ebenfalls wie X-97 ein Hemmstoff der Glutaminsynthetase sein muß, bestand der Verdacht der Identität mit einem der bekannten Hemmstoffe Alazopeptin, Duazomycin B, PTC-ala-ala oder PMS-ala-ala. Diese vier Hemmstoffe konnten jedoch durch Differenzen im biologischen Wirkungsspektrum und beim dünnschichtchromatografischen Vergleich eindeutig ausgeschlossen werden. Hinzu kommen die ersten Interpre-

tationen der chemischen Analysen. Sie qualifizieren X-1606 zu einem Tripeptid, das 1 Mol einer sauren P-haltigen AS (warhead?) und 2 Mol einer neutralen AS (vehicle?) enthält, die jedoch kein Ala sind.

Das breite Wirkungsspektrum von X-1606, seine guten MHK´s auf einzelne Teststämme und seine Eigenschaften als Hemmstoff der Glutaminsynthetase machen X-1606 für weitere Untersuchungen interessant. Beispielsweise sollte der Einsatz als fungizides Antibiotikum geprüft werden (Niida et al., 1974). Die Strukturaufklärung von X-1606 könnte auch eine weitere Antwort auf die Frage bringen, welche Aminosäuren sich außer Ala noch als Vehikel für Hemmstoffe mit Peptidcharakter eignen.

4.2. Synthetische Hemmstoffe

Ala-ala-(O-carbamyl)-D-ser

Obwohl das semisynthetische Tripeptid von O-Carbamyl-D-serin im biologischen Test keine toxische Wirkung zeigte, scheint eine Interpretation des Ergebnisses sinnvoll. Aminosäureantagonisten mit Peptidcharakter müssen vor der Entfaltung ihrer Wirkung transportiert und hydrolysiert werden. Auf allen drei Ebenen, während der Aufnahme, während der Hydrolyse oder am Wirkort, kann die toxische Wirkung verloren gehen.

Ala-ala-(O-carbamyl)-D-ser mit seiner Konfiguration LLD sollte als Tripeptid via opt in die Zelle gelangen. Die verwendeten Teststämme besitzen größtenteils ein solches Transportsystem (Payne, 1971; Ames et al., 1973; Cascieri & Mallette, 1976; Payne & Gilvarg, 1978). Obwohl die Aussagen der Literatur über den Transport in einigen Fällen fraglich sind, weil fehlende Peptidaseaktivitäten die Ergebnisse verfälschen können, so berichten doch mehrere Autoren über einen erfolgreichen Transport von Tripeptiden mit der Konfiguration LLD (Payne & Gilvarg, 1971; Payne, 1972; Becker & Naider, 1974; Payne & Gilvarg, 1978).

Anders als auf der Ebene des Transports wirkt sich die Konfiguration LLD für einen erfolgreichen Angriff von Peptidasen in vielen Fällen ungünstig aus. Shankman et al. (1960; 1961; 1962) berichten, daß Val-val-D-val von Lactobacillusarten noch transportiert, jedoch nicht mehr hydrolysiert wird. C-terminal angreifende Carboxypeptidasen sind in vielen Fällen unfähig, solche Peptide zu spalten. Für diese Erklärung spricht auch, daß Bacillus subtilis, bekannt durch seine Empfindlichkeit gegen O-Carbamyl-D-serin und durch seine extrazellulären Peptidasen (Ray & Wagner, 1972; Wagner et al., 1972), gegen das Tripeptid unempfindlich ist.

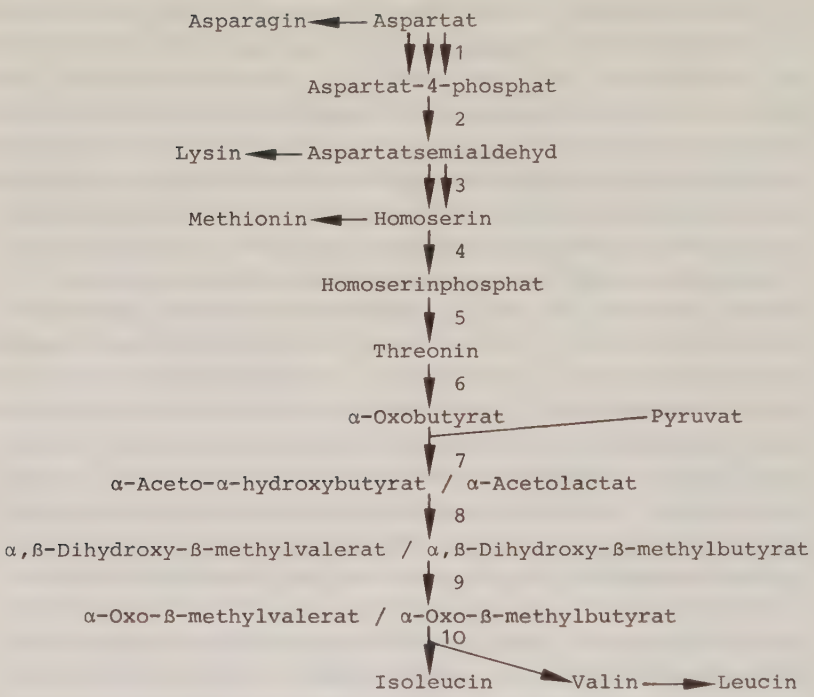
Da O-Carbamyl-D-serin ein Hemmstoff der Alaninracemase (Wang & Walsh, 1978) ist, erscheint die Wahl von Ala-ala als Vehikel ungeeignet. Die Zelle erhält somit, erfolgreichen Transport und Hydrolyse vorausgesetzt, mit jedem Mol Hemmstoff gleichzeitig 2 Mol Ala, das eigentliche Substrat dieses Enzyms. Die besondere Rolle von Ala als Vehikel (vgl. 3.4.1.) und andere erfolgreiche Beispiele (Alaphosphin) rechtfertigen jedoch die Verwendung von Ala, da es nach der Hydrolyse via Aminosäurepermease sehr schnell wieder die Bakterienzelle verläßt (Atherton et al., 1979a) oder verstoffwechselt wird.

Isoleucinantagonisten

Für eine selektive Wirkung von Hemmstoffen sind grundsätzlich alle Biosynthesewege zu Aminosäuren interessant, die in Säugetieren nicht mehr existieren, d.h. deren Aminosäuren essentielle Nahrungsbestandteile sind. Hemmstoffe der Aspartatfamilie erfüllen diese Voraussetzung und können deshalb als interessante Verbindungen (warheads) angesehen werden. 3-Cyclohexenylglycin ist ein potenter Hemmstoff der bakteriellen Threonindesaminase (Keller-Schierlein et al., 1969). Bisher sind keine weiteren empfindlichen Wirkorte und auch kein Einbau ins Protein anstelle Ile beschrieben. Die Isoleucyl-t-RNA-synthetase von Bacillus subtilis wird ebenfalls nur unbedeutend gehemmt (Krüpe & Poralla, 1972).

Die peptidartigen Derivate dieses Hemmstoffs brachten teilweise beachtliche Verbesserungen der MHK (bis zum Faktor 1000 bei Bacillus subtilis). Phytopathogene Organismen als weiteres potentielles Einsatzgebiet von Isoleucinantagonisten wurden jedoch nur schwach oder nicht gehemmt. Da auch Hefen von 3-Cyclohexenylglycin nur unbedeutend gehemmt wurden und das Tripeptid davon völlig inaktiv war, wurde untersucht, ob auch die Threonindesaminase aus Saccharomyces cerevisiae durch Isoleucinantagonisten beeinflußbar ist. DeRobichon-Szulmajster & Magee (1968) fanden, daß sich die aus Saccharomyces cerevisiae isolierte Threonindesaminase in ihrem Verhalten zu Ile nicht vom analogen bakteriellen Enzym unterscheidet. In beiden Fällen wirkt Ile durch feedback-Hemmung inaktivierend, während Val aktivierende Eigenschaften besitzt (Umbarger, 1956; Holzer et al., 1963). Die "falsche" feedback-Hemmung der Antagonisten zeigt sich auch im Enzymtest an der Threonindesaminase aus einer Hefe. Da der Inhibitionsindex von 0,5 3-Cyclohexenylglycin in vitro als einen potenten Hemmstoff charakterisiert, kann die Unwirksamkeit in vivo nur mit der fehlenden Aufnahme des Hemmstoffs diskutiert werden. Bis heute liegen nur wenige zum Teil widersprüchliche Untersuchungen über den Peptidtransport in Hefen vor (Becker et al., 1973; Naider et al., 1974; Becker & Naider, 1974; 1977; Logan et al., 1979; Nisbet & Payne, 1979a; 1979b) und bis zur gezielten Synthese transportierbarer Peptide nach dem vehicle-warhead-Konzept bedarf es noch grundlegender Untersuchungen.

Das Tripeptid Ala-ala-3-cyclohexenylglycin kann für zukünftige Untersuchungen als antibakteriell wirkender Grundkörper angesehen werden. Um noch weitere Wirkungssteigerungen im Sinne einer echten Potenzierung zu erhalten, sollte versucht werden, mit einem zweiten Hemmstoff ein anderes Enzym des Biosyntheseweges zum Ile zu hemmen. Dabei müssen die beiden Hemmstoffe nicht einzeln angeboten werden, wie im Fall von Trimethoprim (Folsäureantagonist) und Sulfamethoxazol (p-Aminobenzoesäureantagonist) (Garrod et al., 1972), sondern die beiden aminosäureanalogen Hemmstoffe können zu einem Peptid verknüpft werden (Kihara & Snell, 1960; Hill & Dunn, 1969).



Nr.	Enzym	Isoenzym	Repression durch
1	Aspartokinase I	x	Thr + Ile
	Aspartokinase II	x	Met
	Aspartokinase III	x	Lys
2	Aspartatsemialdehyddehydrogenase		-
3	Homoserindehydrogenase I	x	Thr + Ile
	Homoserindehydrogenase II	x	Met
4	Homoserinkinase		Thr + Ile
5	Threoninsynthetase		Thr + Ile
6	Threonindesaminase		Ile
7	Acetohydroxysäuresynthetase		Ile + Val + Leu
8	Acetohydroxysäureisomeroreductase		Ile + Val + Leu
9	Dihydroysäuredehydratase		Ile + Val + Leu
10	Transaminase		-

Abb. 10: Regulation der Aspartatfamilie in Escherichia coli und Salmonella typhimurium (verändert nach Gottschalk, (1979)).

Es gibt vier verschiedene Möglichkeiten für Enzyminhibitoren, in die Enzymregulation einzugreifen:

a) mono-, di- oder polyvalente Repression der Enzymneusynthese,
b) allosterische Beeinträchtigung des regulatorischen Enzyms durch Substrat, Produkt oder Hemmstoff,
c) Hemmung der AS-t-RNA-synthetasen durch substratanaloge Substanzen oder
d) "falsche" feedback-Hemmung durch produktanaloge Hemmstoffe.

Abb. 10 zeigt die Enzymregulation der Aspartatfamilie bei Escherichia coli und Salmonella typhimurium. Bisher konnte nur eine "falsche" feedback-Hemmung von Isoleucinantagonisten auf die Threonindesaminase gefunden werden. Inwieweit diese Antagonisten auch reprimierend auf die Enzymneusynthese wirken, ist unklar. Interessant ist in diesem Zusammenhang aber, daß die Threonindesaminase das einzige monovalent reprimierte Enzym dieser Kette ist und daß bisher nur Hemmstoffe dieses Enzyms beschrieben wurden. Die Homoserinkinase und die Threoninsynthetase sind Enzyme, die beide von Ile und Thr divalent reguliert werden. Es scheint deshalb spekulativ, ein Peptid zu synthetisieren, das neben dem Ile-analogen auch einen Thr-analogen Strukturteil hat. Beispielsweise käme

Ala-3-cyclohexenylglycyl-threonin(P)

in Frage, in dessen Thr-Teil die Carboxylgruppe durch eine Phosphorsäuregruppierung ersetzt ist. Analog zum Alaphosphin (Allen et al., 1978) könnte Thr(P) toxische Eigenschaften bekommen und dann im Zusammenspiel mit 3-Cyclohexenylglycin schließlich die Threonindesaminase, die Threoninsynthetase und die Homoserinkinase hemmen. Ein synergistischer Effekt bei der Hemmung wäre denkbar.

p-Aminobenzoesäurederivate

Ein generelles Transportsystem für Polyamine ist nur für Escherichia coli (Tabor & Tabor, 1966; Munro et al., 1974) beschrieben. Tab. 13 (vgl. 3.6.) läßt zwar Vermutungen über eine weitere Verbreitung dieses Systems zu, doch scheint eine Verallgemeinerung und analoge Interpretation der Ergebnisse mit den anderen Teststämmen nicht gerechtfertigt.

Die Aufhebungsmuster zwischen den vier Derivaten und Spermidin bzw. Putrescin (Tab. 14) dürften mit einer Kompetition um die Aufnahme erklärbar sein. Sulfonamide zeigten mit Polyaminen keine Aufhebungsmuster. Es fällt auf, daß die Syntheseprodukte I und IV als Hemmstoffe vom Spermidintyp besser durch Spermidin und II und III als Hemmstoffe vom Putrescintyp besser durch Putrescin antagonisiert werden.

Die MHK´s von SP I bis III sprechen nicht für ein aktives Transportgeschehen, eher für eine energieunabhängige Adsorption der Hemmstoffe. Beim Vergleich der biologischen Wirksamkeit der einzelnen Derivate macht SP IV auf sich aufmerksam. Diese Verbindung zeigt gleich gute oder bessere Wirksamkeit als herkömmliche Sulfonamide und ist als Ausgangspunkt für weitere Synthesen geeignet. In ihr befindet sich zwischen dem Polyamin und dem Sulfanilamid ein Nicotinsäureamidrest (vgl. 2.1.4.).
Es ist offen, ob diese Verbindung in der Zelle gespalten wird. Geht man davon aus, daß sie als ganzes unverändertes Molekül ihre Wirkung entfaltet, so ermöglicht dieses Nicotinsäureamid einen größeren Abstand zwischen dem Sulfanilamid und dem Polyamin. Einen analogen Effekt beobachtete man bei der biologischen Wirksamkeit der semisynthetischen Sideromycine 6-Sulfanilamidonicotinsäure-ferricrocinylester und N-(6-Sulfanilamido-nicotinoyl)-ferrioxamin B (Diddens, 1979). Der ausreichende Abstand zwischen Vehikel und Hemmstoff könnte demnach bei Verbindungen eine Rolle spielen, die vor ihrer Wirkung nicht gespalten werden.

4.3. Aufnahme von Hemmstoffen über Peptidtransportsysteme

Diddens et al. (1976; 1979) untersuchten die Aufnahme von PTC-ala-ala, PMS-ala-ala, Methionin-S-dioxidyl-ala-ala und Plumbemycin B über das Oligopeptidtransportsystem von Escherichia coli K-12. In dieser Arbeit wird die Aufnahme weiterer Tripeptide über diese opt beschrieben. Ala-ala-3-cyclohexenylglycin und X-1606 gelangen so in die Zellen von Escherichia coli K-12. Die Mut. A dieses Teststamms zeigt auch gegen diese Hemmstoffe Resistenz.

Die Dipeptidhemmstoffe Alaphosphin, Bacilysin, Ala-3(α-chlor-3-hydroxy-2-oxo-3-azetidinylmethyl)-ala, 1-Hydroxy-2-valylamidocyclobutan-1-essigsäure, Ala-(D,L)-3-cyclohexenylglycin, Di-(D,L)-3-cyclohexenylglycin und X-97 werden ebenfalls von Escherichia coli K-12 über Peptidtransportsysteme aktiv aufgenommen. Die Existenz zweier Transportsysteme, die beide von Dipeptiden benutzt werden können, kompliziert die Interpretation der Ergebnisse (DeFelice et al., 1973). Bei den Untersuchungen stellte sich heraus, daß Bacilysin, Ala-3(α-chlor-3-hydroxy-2-oxo-3-azetidinylmethyl)-ala, Ala-(D,L)-3-cyclohexenylglycin, Di-(D,L)-3-cyclohexenylglycin und X-97 sowohl die opt als auch die dpt von Escherichia coli K-12 benutzen können, daß jedoch für die Entfaltung eines toxischen Effektes schon die Aufnahme über eines der beiden Systeme ausreicht. Alaphosphin dagegen scheint nur via dpt transportiert zu werden, denn eine Wirkortresistenz der Mut. C ist unwahrscheinlich. Eine Zwischenstellung zwischen diesen beiden Möglichkeiten nimmt das Dipeptid 1-Hydroxy-2-valylamidocyclobutan-1-essigsäure ein. Auf Grund seiner γ-Carboxylgruppe am C-terminalen Ende erfüllt es die strukturellen Anforderungen nicht vollständig, so daß eine verringerte Affinität zu dpt und opt die Folge sein kann.

Eine kritische Betrachtung scheint auch bei der Frage nach der Universalität von dpt und opt angebracht. Für Dipeptide wurde bisher immer nur ein generelles Transportsystem beschrieben, jedoch wurde fast ausnahmslos mit verwandten Dipeptiden gearbeitet. Anders verhält es sich beim Oligopeptidtransport. Hier exi-

stieren neben einem generellen (Payne & Gilvarg, 1978) noch verschiedene spezifische Transportsysteme (Barak & Gilvarg, 1975; Naider & Becker, 1975; Jackson et al., 1976).

Separate Transportsysteme für Oligo- und Dipeptide wurden bisher bei Escherichia coli W, Escherichia coli K-12, Salmonella typhimurium, Pseudomonas putila, Pseudomonas maltophilia und Neurospora crassa (Payne, 1971; Ames et al., 1973; Wolfinbarger & Marzluf, 1975; 1976; Cascieri & Mallette, 1976) gefunden. Die auffallende Empfindlichkeit von Bacillus subtilis gegen Peptidhemmstoffe ließ uns auch bei diesem Bakterium aktive Aufnahmesysteme vermuten. Die Untersuchungen mit dem Wildtyp und der Mut. A von Bacillus subtilis und verschiedenen Peptidhemmstoffen bestätigen die Existenz von dpt und opt, über die solche Hemmstoffe im Zellinnern akkumuliert werden können. Demnach behindern die extrazellulären Peptidasen von Bacillus subtilis (Ray & Wagner, 1972; Wagner et al., 1972) nicht die Aufnahme der ganzen Peptide. Es konnte gezeigt werden, daß Ala-(D,L)-3-cyclohexenylglycin via dpt aufgenommen wird. Ob auch analog zu Escherichia coli K-12 eine zusätzliche Aufnahme via opt in Frage kommt, wurde nicht untersucht. Die Tripeptide Ala-ala-3-cyclohexenylglycin, Ala-ala-(D,L)-cyclohexylglycin, (D,L)-Cyclohexylglycyl-ala-ala und X-1606 werden via opt aufgenommen. Die Mut. A von Bacillus subtilis zeigt Kreuzresistenz zu allen Tripeptidhemmstoffen. Eine Zusammenfassung der strukturellen Erfordernisse für den Peptidtransport in Bacillus subtilis mit den bisher gesammelten Erkenntnissen erübrigt sich jedoch, da noch keine signifikanten Unterschiede zu Escherichia coli K-12 gefunden wurden.

Zur Verbreitung solcher Transportsysteme über Escherichia coli K-12 und Bacillus subtilis hinaus können höchstens Vermutungen angestellt werden. Die Ergebnisse der Wirkungsspektren natürlicher und synthetischer Peptidhemmstoffe lassen eine Existenz von Peptidtransportsystemen bei Escherichia coli B, Salmonella typhimurium, Serratia marcescens, Klebsiella pneumoniae, Corynebacterium spec., Staphylococcus aureus, Agrobacterium tumefa-

ciens, Botrytis cinerea und Mucor hiemalis möglich erscheinen. Jedoch müßte für konkrete Aussagen jeder einzelne Teststamm aufs Neue intensiv untersucht werden.

4.4. Entwicklung neuer Hemmstoffe nach dem vehicle-warhead-Konzept

Mit der im Anhang wiedergegebenen Übersicht über Aminosäureantagonisten werden zwei Ziele verfolgt. Einmal soll sie den nach neuen Naturstoffen suchenden Mikrobiologen in die Lage versetzen, bereits bekannte Substanzen möglichst schnell und sicher auszuschließen. Zum anderen soll sie Anregung sein zur Synthese weiterer Hemmstoffe nach dem vehicle-warhead-Konzept.

Die Übersicht enthält an sich schon einige potente Hemmstoffe, deren Verknüpfung zu Peptiden interessant erscheint. Als Beisiel sei hier der Tryptophanantagonist Indolmycin genannt, der ein spezifisch prokaryontischer Hemmstoff der Tryptophanligase ist (Floss et al., 1978; Hirota et al., 1978; Werner & Reuter, 1979). In vitro wird dieses Enzym grampositiver Bakterien ebenso wie das gramnegativer gehemmt. In vivo zeigt Indolmycin jedoch nur gegen grampositive Bakterien gute MHK´s. Durch eine Verknüpfung von Indolmycin mit Ala bzw. Ala-ala sollte es gelingen, den Hemmstoff via Peptidtransportsysteme auch in gramnegative Bakterien zu bringen. Die vermutlich sehr spezifische Tryptophanpermease gramnegativer Bakterien erlaubt keine Aufnahme von Indolmycin. Somit ist nach der Freisetzung des Hemmstoffs durch intrazelluläre Peptidasen auch kein carrier-vermittelter Efflux wie für Ala zu erwarten. Eine gute Akkumulation des Hemmstoffs in der Bakterienzelle dürfte die Folge sein.

Ein weiterer Weg zur Synthese neuer potenter Hemmstoffe ist die Analyse der Strukturvariationen an natürlichen Aminosäuren, die zu antimetabolischen Eigenschaften führt. Eine Entstehung von Toxizität wird beobachtet durch:

a) ungewöhnliche Seitenketten,
b) Ersatz von -COOH durch andere saure Gruppen (Phosphonat, Phosphinat, Sulfonat, Sulfonamid, Hydroxamat, ...), -H, $-SOCH_3$ und Ketone,
c) Ersatz von -H durch $-CH_3$, -OH, $-NH_2$, $-NH-NH_2$, $-CNH-NH_2$ und Halogene,
d) Ersatz von $-CH_3$ durch Halogene und -H,
e) Ersatz von $-CH_2-$ durch -O-,
f) Positionsänderung von $-CH_3$,
g) Verlängerung der Seitenkette durch $-CH_2-$,
h) Ersatz von -OH durch $-NH_2$,
i) Ersatz von $-NH_2$ durch -OH,
j) Ersatz von -NH- durch -S-,
k) Ersatz von -S- durch -CH=CH-, -O-, $-CH_2-$ und -Se-,
l) Einführung von ungesättigten Verbindungen,
m) Einführung von Heteroatomen in aromatische Ringe,
n) optische Inversion (L- zu D-Form) und
o) Kombination mehrerer Veränderungen innerhalb eines Moleküls.

Auch das von Kihara & Snell (1960) erstmals diskutierte Prinzip der Doppelhemmung scheint insbesondere in Bezug auf synergistische Effekte interessant (Hill & Dunn, 1969). Die große Kapazität des bakteriellen Membrantransports und der enzymatischen Hydrolyse ist dabei erfolgversprechend. So erscheint beispielsweise die Synthese des Tripeptids

Ala-anticapsyl-ala(P)

mit den beiden allein schlecht permeablen Substanzen Anticapsin (Neuss et al., 1970; Rickards et al., 1977) und 1-Aminoäthylphosphonsäure (Atherton et al., 1979a) interessant. Nach der Hydrolyse sollte es zu einer guten Anreicherung der beiden Hemmstoffe der Glucosaminsynthetase (Kenig et al., 1976) und der Alaninracemase (Hassall et al., 1977) in der Bakterienzelle kommen. Die Folge dürfte nicht nur eine Wirkungssteigerung, sondern außerdem eine Erweiterung des biologischen Wirkungsspektrums sein. Eine zusätzliche chemotherapeutische Kombination mit ß-Lactamantibiotika ist denkbar (Maruyama et al., 1979).

Es stellt sich auch die Frage, ob die Verwendung ganzer Zellsysteme bei der Suche nach neuen Hemmstoffen richtig ist. Vielmehr sollte ein Differenztest zwischen der Wirkung auf ganze Zellen und auf isolierte Enzyme impermeable Hemmstoffe selektionieren (Penninckx & Gigot, 1979), die dann wegen des fehlenden carrier-vermittelten Effluxes interessante Verbindungen für das vehicle-warhead-Konzept sein sollten.

5. Z U S A M M E N F A S S U N G

X-97 ist ein neuer bakteriostatisch wirkender Glutaminantagonist mit Dipeptidcharakter, der via opt und dpt von Escherichia coli K-12 aufgenommen wird. Er hemmt verschiedene gramnegative Bakterien und ist unwirksam gegen grampositive bzw. schwach wirksam gegen Pilze.

X-1606 ist ein neuer bakteriostatisch wirksamer Glutaminantagonist mit Tripeptidcharakter, der via opt in die Zellen von Bacillus subtilis und Escherichia coli K-12 gelangt. Er besitzt ein breites biologisches Wirkungsspektrum und gute MHK´s.

Die Aufnahme und die Wirkung von Isoleucinantagonisten in Aminosäure- und Peptidform auf verschiedene Teststämme bzw. auf die Threonindesaminase aus Saccharomyces cerevisiae wurde geprüft. Durch die Verknüpfung dieser Antagonisten zu Peptiden wurden beachtliche Wirkungssteigerungen (bis zum Faktor 1000) erreicht.

Der Mißbrauch von opt und dpt in Escherichia coli K-12 durch verschiedene Hemmstoffe und kleine Peptidantibiotika konnte gezeigt werden.

Durch die Verwendung toxischer Peptide wurde die Existenz mindestens zweier Peptidtransportsysteme in Bacillus subtilis nachgewiesen. Die als opt und dpt bezeichneten Permeasen wurden charakterisiert.

Tripeptide mit der Konfiguration LLD scheinen für das vehicle-warhead-Konzept ungeeignet zu sein.

Es wurden verschiedene transportdefekte Mutanten von Escherichia coli K-12 und Bacillus subtilis isoliert, um die Aufnahme toxischer Peptide indirekt messen zu können.

Polyamine wurden als Vehikel für Antagonisten der p-Aminobenzoesäure geprüft. Der Mißbrauch des Aufnahmesystems für Polyamine durch toxische sulfonamidenthaltende Derivate konnte gezeigt werden.

Weitere Hemmstoffe nach dem vehicle-warhead-Konzept werden diskutiert.

Es ist eine Übersicht über natürliche und synthetische Aminosäureantagonisten erarbeitet worden.

6. L I T E R A T U R V E R Z E I C H N I S

Allen, J.G.; F.R. Atherton, M.J. Hall, C.H. Hassall, S.W. Holmes, R.W. Lambert, L.J. Nisbet & P.S. Ringrose: Phosphonopeptides, a new class of synthetic antibacterial agents. Nature (Lond.) 272: 56-58 (1978)

Allen, J.G.; F.R. Atherton, M.J. Hall, C.H. Hassall, S.W. Holmes, R.W. Lambert, L.J. Nisbet & P.S. Ringrose: Phosphonopeptides as antibacterial agents: Alaphosphin and related phosphonodipeptides. Antimicr. Agents Chemother. 15: 684-695 (1979)

Ames, B.N.; G.F.L. Ames, J.D. Young, D. Tsuchiya & J. Lecocq: Illicit transport: The oligopeptide permease. Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 70: 456-458 (1973)

Ames, G.F. & J.R. Roth: Histidine and aromatic permeases of Salmonella typhimurium. J. Bacteriol. 96: 1742-1749 (1968)

Anand, N.: Sulfonamides and sulfones. In: Antibiotics (J.W. Corcoran, F.E. Hahn, eds.), Vol. III, pp. 668-698, Springer, Berlin, Heidelberg, New York (1975)

Argoudelis, A.D.; F. Reusser, S.A. Mizsak & L. Baczynskyi: Antibiotics produced by Streptomyces ficellus. II. Feldamycin and nojirimycin. J. Antibiot. (Tokyo) 29: 1007-1014 (1976)

Atherton, F.R.; M.J. Hall, C.H. Hassall, R.W. Lambert, W.J. Lloyd & P.S. Ringrose: Phosphonopeptides as antibacterial agents: Mechanism of action of alaphosphin. Antimicr. Agents Chemother. 15: 696-705 (1979a)

Atherton, F.R.; M.J. Hall, C.H. Hassall, R.W. Lambert & P.S. Ringrose: Phosphonopeptides as antibacterial agents: Rationale, chemistry, and structure-activity relationships. Antimicr. Agents Chemother. 15: 677-683 (1979b)

Barak, Z. & C. Gilvarg: Triornithine-resistant strains of Escherichia coli: Isolation, definition, and genetic studies. J. Biol. Chem. 249: 143-148 (1974)

Barak, Z. & C. Gilvarg: Specialised transport system in Escherichia coli. J. Bacteriol. 122: 1200-1207 (1975)

Barak, Z.; S. Sarid & E. Katchalski: Inhibition of protein biosynthesis in Escherichia coli B by tri-L-ornithine. Eur. J. Biochem. 34: 317-324 (1973)

Bayer, E.; K.H. Gugel, K. Hägele, H. Hagenmaier, S. Jessipow, W.A. König & H. Zähner: Stoffwechselprodukte von Mikroorganismen. 98. Mitteilung. Phosphinothricin und Phosphinothricyl-alanyl-alanin. Helv. Chim. Acta 55: 224-239 (1972)

Becker, J.M. & F. Naider: Stereospecificity of tripeptide utilization in a methionine auxotroph of Escherichia coli K-12. J. Bacteriol. 120: 191-196 (1974)

Becker, J.M. & F. Naider: Peptide transport in yeast: Uptake of radioactive trimethionine in Saccharomyces cerevisiae. Arch. Biochem. Biophys. 178: 245-255 (1977)

Becker, J.M.; F. Naider & E. Katchalski: Peptide utilization in yeast. Studies on methionine and lysine auxotrophs of Saccharomyces cerevisiae. Biochim. Biophys. Acta 291: 388-397 (1973)

Boeck, L.D.; K.L. Christy & R. Shah: Production of anticapsin by Streptomyces griseoplanus. Appl. Microbiol. 21: 1075-1079 (1971)

Braun, V.: Membranpermeation und Antibiotika-Resistenz bei Bakterien. Naturwissenschaften 64: 126-132 (1977)

Brennenstuhl, M.: Bedeutung des PEP: Zucker Phosphotransferase-systems für die Akkumulation von Streptozotozin durch Escherichia coli und Staphylococcus aureus. Diplomarbeit, Universität Tübingen (1976)

Brown, G.M.: The biosynthesis of folic acid. II. Inhibition by sulfonamides. J. Biol. Chem. 237: 536-540 (1962)

Cascieri, T. & M.F. Mallette: Peptide utilization by Pseudomonas putida and Pseudomonas maltophilia. J. Gen. Microbiol. 92: 283-285 (1976)

Celmer, W.D.: Cyclohexenes substitues, leur preparation et leur utilisation. Belgisches Patent Nr. 644682 (4.9.1964)

Cennamo, C.; M. Boll & H. Holzer: Über Threonin-Dehydratase aus Saccharomyces cerevisiae. Biochem. Z. 340: 125-145 (1964)

Changeux, J.P.: Effet des analogues de la L-thréonine et de la L-isoleucine sur la L-thréonine désaminase. J. Mol. Biol. 4: 220-225 (1962)

Chmara, H. & E. Borowski: The inhibition of murein synthesis in Staphylococcus aureus by the antibiotic tetaine. Biochem. Biophys. Res. Commun. 55: 1147-1155 (1973)

Clarke, D.A.; H.C. Reilly & C.C. Stock: Comparative study of 6-diazo-5-oxo-L-norleucine and O-diazoacetyl-L-serine on Sarcoma 180. Proc. Am. Assoc. Cancer Res. and ASCO 2: 100 (1956)

Claus, D.R.: Multiplicity of leucine transport systems in E. coli. Ph. D. Thesis, University of Michigan (1973)

Davis, B.P. & E.S. Mingioli: Mutants of Escherichia coli requiring methionine or vitamine B_{12}. J. Bacteriol. 60: 17-28 (1950)

DeFelice, M.; J. Guardiola, A. Lamberti & M. Iaccarino: Escherichia coli K-12 mutants altered in the transport systems for oligo- and dipeptides. J. Bacteriol. 116: 751-756 (1973)

DeFelice, M.; M. Levinthal, M. Iaccarino & J. Guardiola: Growth inhibition as a consequence of antagonism between related amino acids: Effect of valine in Escherichia coli K-12. Microbiol. Rev. 43: 42-58 (1979)

DeFelice, M.; C. Squires, M. Levinthal & J. Guardiola: Growth inhibition of Escherichia coli K-12 by L-valine: A consequence of a regulatory pattern. Mol. Gen. Genet. 156: 1-7 (1977)

DeRobichon-Szulmajster, H. & P.T. Magee: The regulation of isoleucine-valine biosynthesis in Saccharomyces cerevisiae. Eur. J. Biochem. 3: 492-501 (1968)

DeVoe, S.E.; N.E. Rigler, A.J. Shay, J.H. Martin, T.C. Boyd, E.J. Backus, J.H. Mowat & N. Bohonos: Alazopeptin: Production, isolation, and chemical characteristics. Antibiot. Annu. 1956/1957: 730-735 (1957)

DeZeeuw, J.R.: Accumulation of tetracyclines by Escherichia coli. J. Bacteriol. 95: 498-506 (1968)

Diddens, H.: Untersuchungen zum Transport von Antibiotika über die Aufnahmesysteme für Oligopeptide und Sideramine. Dissertation, Universität Tübingen (1979)

Diddens, H.; M. Dorgerloh & H. Zähner: Metabolic products of microorganisms. 176. On the transport of small peptide antibiotics in bacteria. J. Antibiot. (Tokyo) 32: 87-90 (1979)

Diddens, H.; H. Zähner, E. Kraas, W. Göhring & G. Jung: On the transport of tripeptide antibiotics in bacteria. Eur. J. Biochem. 66: 11-23 (1976)

Drews, G.: Mikrobiologisches Praktikum. III. Auflage, p. 19, Springer, Berlin, Heidelberg, New York (1976)

Edelson, J.; J.D. Fissekis, C.G. Skinner & W. Shive: 3-Cyclohexene-1-glycine, an isoleucine antagonist. J. Am. Chem. Soc. 80: 2698-2700 (1958)

Eikhom, T.S.; J. Jonsen, S. Laland & T. Refsvik: On the biosynthesis of gramicidin S. Biochim. Biophys. Acta 76: 465-468 (1963)

Ellestad, G.A.; D.B. Cosulich, R.W. Broschard, J.H. Martin, M.P. Kunstmann, G.O. Morton, J.E. Lancaster, W. Fulmor & F.M. Lovell: Glycocinamoylspermidines, a new class of antibiotics.3. The structure of LL-BM 123 ß, γ_1 and γ_2. J. Am. Chem. Soc. 100: 2515-2524 (1978)

Fickel, T.E. & C. Gilvarg: Transport of impermeant substances in E. coli by way of oligopeptide permease. Nat. New Biol. 241: 161-163 (1973)

Floss, H.G.; C.J. Chang, O. Mascaretti & K. Shimada: Studies on biosynthesis of antibiotics. Planta Med. 34: 345-380 (1978)

Fohmann, A.: Biochemische Charakterisierung von 50 Isoleucin-auxotrophen und 2 Valin-auxotrophen Saccharomyces cerevisiae-Mutanten. Diplomarbeit, Universität Tübingen (1979)

Garrod, L.P.; H.P. Lambert & F.O. Grady: Antibiotic and chemotherapy. 3. Auflage, Churchil Livingstone, Edinburgh, London (1972)

Gilvarg, C. & Y. Levin: Response of Escherichia coli to ornithyl peptides. J. Biol. Chem. 247: 543-549 (1972)

Gottschalk, G.: Regulation of bacterial metabolism. In: Bacterial metabolism (G. Gottschalk, ed.), pp. 142-166, Springer, New York, Heidelberg, Berlin (1979)

Griffith, O.W.; M.E. Anderson & A. Meister: Inhibition of glutathione biosynthesis by prothionine sulfoximine (S-n-propyl homocysteine sulfoximine), a selective inhibitor of γ-glutamylcysteine synthetase. J. Biol. Chem. 254: 1205-1210 (1979)

Guardiola, J.; M. DeFelice, T. Klopotowski & M. Iaccarino: Multiplicity of isoleucine, leucine, and valine transport systems in Escherichia coli K-12. J. Bacteriol. 117: 382-392 (1973)

Gugel, K.-H.: Isolierung und Wirkungsweise von Phosphinotricyl-alanyl-alanin, ein Antibiotikum aus Streptomyces viridochromogenes. Dissertation, Universität Tübingen (1971)

Hagemann, G.; L. Pénasse & J. Teillon: Sur un dérivé de la sérine, la O-carbamyl-D-sérine, produit par un Streptomyces. Biochim. Biophys. Acta 17: 240-243 (1955)

Hanka, L.J.: Mechanism of action of psicofuranine. J. Bacteriol. 80: 30-36 (1960)

Hanka, J.L.: In vitro system for detection of antimetabolites of specific amino acids. Cancer Treat. Rep. 63: 1133-1136 (1979a)

Hanka, L.J.: Introduction: Possibilities for biochemically rational chemotherapy for some malignancies with depleting enzymes and antimetabolites of specific amino acids. Cancer Treat. Rep. 63: 1009-1011 (1979b)

Hassall, C.H.; J.G. Allen, F.R. Atherton, M.J. Hall, S.W. Holmes, R.W. Lambert, I. Lenox-Smith, L.J. Nisbet & P.S. Ringrose: The design and evaluation of Ro 03-7008, a novel antibacterial drug. 10th Int. Congress Chemoth., Abstr. No. 365 (1977)

Hill, J.T. & F.W. Dunn: Synthesis and microbiological properties of dipeptides containing cyclopentaneglycine and ß-2-thienylalanine. J. Med. Chem. 12: 737-740 (1969)

Hirota, A.; Y. Higashinaka & H. Sakai: Isolation of indolmycin and its derivative as antagonists of L-tryptophan. Agric. Biol. Chem. 42: 147-151 (1978)

Höltje, J.-V.: Streptomycin uptake via an inducible polyamine transport system in Escherichia coli. Eur. J. Biochem. 86: 345-351 (1978)

Höltje, J.-V.: Regulation of polyamine and streptomycin transport during stringent and relaxed control in Escherichia coli. J. Bacteriol. 137: 661-663 (1979a)

Höltje, J.-V.: Induction of streptomycin uptake in resistant strains of Escherichia coli. Antimicr. Agents Chemother. 15: 177-181 (1979b)

Höltje, J.-V.: Persönliche Mitteilung (1979c)

Holzer, H.; M. Boll & C. Cennamo: Zur Biochemie der Threonin-Desaminase aus Hefe. Angew. Chemie 75: 894-900 (1963)

Hütter, R.: Systematik der Streptomyceten. S. Karger, Basel, New York (1967)

Hutchings, B.L.: Tetracycline transport in Staphylococcus aureus H. Biochim. Biophys. Acta 174: 734-748 (1969)

Inouye, S.; T. Shomura, T. Tsuruoka, Y. Ogawa, H. Watanabe, J. Yoshida & T. Niida: L-ß-(5-hydroxy-2-pyridyl)-alanine and L-ß-(3-hydroxyureido)-alanine from Streptomyces. Chem. Pharm. Bull. (Tokyo) 23: 2669-2677 (1975)

Jackson, J.H. & H.E. Umbarger: Defective transamination, a mechanism for resistance to ketomycin in Escherichia coli. Antimicr. Agents Chemother. 3: 510-516 (1973)

Jackson, M.B.; J.M. Becker, A.S. Steinfeld & F. Naider: Oligopeptide transport in proline peptidase mutants of Salmonella typhimurium. J. Biol. Chem. 251: 5300-5309 (1976)

Kaback, H.R. & E.R. Stadtman: Glycine uptake in Escherichia coli. II. Glycine uptake, exchange, and metabolism by an isolated membrane preparation. J. Biol. Chem. 243: 1390-1400 (1968)

Kahan, F.M.; J.S. Kahan, P.J. Cassidy & H. Kropp: The mechanism of action of fosfomycin (phosphonomycin). Ann. N. Y. Acad. Sci. 235: 364-386 (1974)

Kamiński, K. & T. Sokołowska: The probable identity of bacilysin and tetaine. J. Antibiot. (Tokyo) 26: 184-185 (1973)

Kay, W.W.: Two aspartate transport systems in Escherichia coli. J. Biol. Chem. 246: 7373-7382 (1971)

Keller-Schierlein, W.; K. Poralla & H. Zähner: Stoffwechselprodukte von Mikroorganismen. 78. Isolierung, Identifizierung und Wirkungsweise von Ketomycin {(R)-3-Cyclohexenylglyoxylsäure} und dessen Umwandlungsprodukt 3-Cyclohexenylglycin. Arch. Microbiol. 67: 339-356 (1969)

Kenig, M. & E.P. Abraham: Antimicrobial activities and antagonists of bacilysin and anticapsin. J. Gen. Microbiol. 94: 37-45 (1976)

Kenig, M.; E. Vandamme & E.P. Abraham: The mode of action of bacilysin and anticapsin and biochemical properties of bacilysin-resistant mutants. J. Gen. Microbiol. 94: 46-54 (1976)

Kihara, H. & E.E. Snell: Peptides and bacterial growth. IX. Release of double inhibitions with single peptides. J. Biol. Chem. 235: 1415-1418 (1960)

Knüsel, F. & W. Zimmermann: Sideromycins. In: Antibiotics (J.W. Corcoran, F.E. Hahn, eds.), Vol. III, pp. 653-667, Springer, Berlin, Heidelberg, New York (1975)

Komatsu, Y. & K. Tanaka: A showdomycin resistant mutant of Escherichia coli K-12 with altered nucleoside transport character. Biochim. Biophys. Acta 288: 390-403 (1972)

Kondo, S.; K. Yoshida, T. Ikeda, K. Iinuma, Y. Honma, M. Hamada & H. Umezawa: 3-epi-Deoxynegamycin and leucyl-3-epi-deoxynegamycin produced by Streptomyces. J. Antibiot. (Tokyo) 30: 1137-1139 (1977)

Krüpe, H. & K. Poralla: Eigenschaften von Bacillus subtilis-Mutanten, die gegen den Isoleucin-Antagonisten Ketomycin resistent sind. Arch. Microbiol. 85: 253-258 (1972)

Lamar, C., jr.; S.L. Sinden & R.D. Durbin: Inhibition in vitro of rat cerebral glutamine synthetase by a exotoxin from Pseudomonas tabaci. Biochem. Pharmacol. 18: 521-529 (1969)

Lazdunski, A.; M. Murgier & C. Lazdunski: Evidence for an amino-endopeptidase localized near the cell surface of Escherichia coli. Eur. J. Biochem. 60: 349-355 (1975a)

Lazdunski, C.; J. Busuttil & A, Lazdunski: Purification and properties of a periplasmatic aminoendopeptidase from Escherichia coli. Eur. J. Biochem. 60: 363-369 (1975b)

Loeffler, W.: Ein einfaches Verfahren zum Erkennen von Dermatophyten. In: Diagnostik und Therapie der Pilzkrankheiten und neuere Erkenntnisse in der Biochemie der pathogenen Pilze (H. Götz, H. Rieth, eds.), pp. 207-234, Grosse, Berlin (1970)

Logan, D.A.; J.M. Becker & F. Naider: Peptide transport in Candida albicans. J. Gen. Microbiol. 114: 179-186 (1979)

Lowry, O.H.; N.J. Rosebrough, A.J. Farr & R.J. Randall: Protein measurement with the folin phenol reagent. J. Biol. Chem. 193: 265-275 (1951)

Lynch, J.L. & F.C. Neuhaus: On the mechanism of action of the antibiotic O-carbamyl-D-serine in Streptococcus faecalis. J. Bacteriol. 91: 449-460 (1966)

Maruyama, H.B.; M. Arisawa & T. Sawada: Alafosfalin, a new inhibitor of cell wall biosynthesis: In vitro activity against urinary isolates in Japan and potentiation with ß-lactams. Antimicr. Agents Chemother. 16: 444-451 (1979)

Matthews, D.M. & J.W. Payne: Occurrence and biological activities of peptides. In: Peptide transport in protein nutrition (D.M. Matthews, J.W. Payne, eds.), pp. 392-463, North-Holland, Amsterdam, Oxford, New York (1975)

Meister, A. & O.W. Griffith: Effects of methionine sulfoximine analogs on the synthesis of glutamine and glutathione: Possible chemotherapeutic implications. Cancer Treat. Rep. 63: 1115-1121 (1979)

Miller, C.G. & K. MacKinnon: Peptidase mutants of Salmonella typhimurium. J. Bacteriol. 120: 355-363 (1974)

Möller, J.M.: Zur Reinigung und Wirkungsweise hydrophiler Antibiotica aus Streptomyces fradiae. Dissertation, Universität Tübingen (1971)

Munro, G.F.; C.A. Bell & M. Lederman: Multiple transport components for putrescine in Escherichia coli. J. Bacteriol. 118: 952-963 (1974)

Naider, F. & J.M. Becker: Multiplicity of oligopeptide transport systems in Escherichia coli. J. Bacteriol. 122: 1208-1215 (1975)

Naider, F.; J.M. Becker & E. Katzir-Katchalski: Utilization of methionine-containing peptides and their derivatives by a methionine-requiring auxotroph of Saccharomyces cerevisiae. J. Biol. Chem. 249: 9-20 (1974)

Neuhaus, F.C.: D-Cycloserine and O-carbamyl-D-serine. In: Antibiotics: Mechanism of action (D. Gottlieb, P.D. Shaw, eds.), Vol. I, pp. 40-83, Springer, New York (1967)

Neuss, N.; B.B. Molloy, R. Shah & N. DeLaHiguera: The structure of anticapsin, a new biologically active metabolite of Streptomyces griseoplanus. Biochem. J. 118: 571-575 (1970)

Niida, T.; S. Inouye, T. Tsuruoka, T. Shomura, Y. Kondo, Y. Ogawa, H. Watanabe, Y. Sekizawa, T. Watanabe & H. Igarashi: Fungizides Antibiotikum, sowie Herstellung und Verwendung desselben. Offenlegungsschrift DAS 2.236.599 (1974)

Nisbet, T.M. & J.W. Payne: Specificity of peptide uptake in Saccharomyces cerevisiae and isolation of a bacilysin-resistant, peptide-transport-deficient mutant. FEMS Microbiol. Lett. 6: 193-196 (1979a)

Nisbet, T.M. & J.W. Payne: Peptide uptake in Saccharomyces cerevisiae: Characteristics of transport system shared by di- and tripeptides. J. Gen. Microbiol. 115: 127-133 (1979b)

Okami, Y.; T. Kitahara, M. Hamada, H. Naganawa, S. Kondo, K. Maeda, T. Takeuchi & H. Umezawa: Studies on a new amino acid antibiotic, amiclenomycin. J. Antibiot. (Tokyo) 27: 656-664 (1974)

Payne, J.W.: Oligopeptide transport in Escherichia coli: Specificity with respect to side chain and distinction from dipeptide transport. J. Biol. Chem. 243: 3395-3403 (1968)

Payne, J.W.: The utilization of prolyl peptides by Escherichia coli. Biochem. J. 123: 255-260 (1971)

Payne, J.W.: Mechanisms of bacterial peptide transport. In: CIBA Foundation Symposium. Peptide transport in bacteria and mammalian gut, pp. 17-42, Associated Scientific Publishers, Amsterdam, London, New York (1972)

Payne, J.W.: Transport of peptides in microorganisms. In: Peptide transport in protein nutrition (D.M. Matthews, J.W. Payne, eds.), pp. 283-364, North-Holland Publishing Company, Amsterdam, Oxford, New York (1975)

Payne, J.W.: Peptides and microorganisms. Adv. Microb. Physiol. 13: 55-113 (1976)

Payne, J.W. & C. Gilvarg: Size restriction on peptide utilization in Escherichia coli. J. Biol. Chem. 243: 6291-6299 (1968)

Payne, J.W. & C. Gilvarg: Peptide transport. Adv. Enzymol. Relat. Areas Mol. Biol. 35: 187-244 (1971)

Payne, J.W. & C. Gilvarg: Transport of peptides in bacteria. In: Bacterial transport (B.P. Rosen, ed.), pp. 325-383, Dekker, New York (1978)

Pecht, M.; E. Giberman, A. Keysary, J. Yariv & E. Katchalski: Hydrolysis of alanine oligopeptides by an enzyme located in the membrane of Mycoplasma laidlawii. Biochim. Biophys. Acta 290: 267-273 (1972)

Penninckx, M. & D. Gigot: Synthesis of a peptide form of N-δ-(phosphonoacetyl)-L-ornithine. Its antibacterial effect through the specific inhibition of Escherichia coli L-ornithine carbamoyltransferase. J. Biol. Chem. 254: 6392-6396 (1979)

Poralla, K.: Zur Wirkungsweise des makrolidartigen Antibiotikums Borrelidin und typischer Makrolid-Antibiotika. Dissertation, Universität Tübingen (1967)

Poralla, K.: Zur Wirkungsweise von Ketomycin (3-Cyclohexenylglyoxylsäure). Zentralbl. Bakteriol. Parasitenkd. Infektionskr. Hyg. Abt. I Orig. 212: 272 (1970)

Pridham, T.G.; P. Anderson, C. Foley, L.A. Linden, A. Felser, C.W. Hesseltine & R.G. Benedict: A selection of media for maintenance and taxonomic study of Streptomyces. Antibiot. Annu. 1956/1957: 947-953 (1956)

Pruess, D.L.; J.P. Scannell, H.A. Ax, M. Kellett, F. Weiss, T.C. Demny & A. Stempel: Antimetabolites produced by microorganisms. VII. L-(N^5-Phosphono)methionine-S-sulfoximinyl-L-alanyl-L-alanine. J. Antibiot. (Tokyo) 26: 261-266 (1973)

Pruess, D.L.; J.P. Scannell, J.F. Blount, H.A. Ax, M. Kellett, T.H. Williams & A. Stempel: Antimetabolites produced by microorganisms. XI. 1-(S)-Hydroxy-2-(S,S)-valylamidocyclobutane-1-acetic acid. J. Antibiot. (Tokyo) 27: 754-759 (1974)

Rao, K.V.: Chemistry of the duazomycins. I. Duazomycin A. Antimicr. Agents Chemother. 1961: 178-183 (1962)

Rao, K.V.; S.C. Brooks, M. Kugelman & A.A. Romano: Diazomycin A, B and C, three antitumor substances. Antibiot. Annu. 1959/1960: 943-949 (1960)

Ray, L.E. & F.W. Wagner: Characteristics of an aminopeptidase activity from the cultural fluid of Bacillus subtilis. Can. J. Microbiol. 18: 853-859 (1972)

Rickards, R.W.; J.L. Rodwell & K.J. Schmalzl: Synthesis of the antibiotic anticapsin. J. Chem. Soc. Chem. Commun. 1977: 849-850 (1977)

Ringrose, P.S.; F.R. Atherton, M.J. Hall, C.H. Hassall, R.W. Lambert, W.J. Lloyd & L.J. Nisbet: In vitro antibacterial activity and mechanism of action of Ro 03-7008, a novel inhibitor of bacterial cell wall biosynthesis. 10th Int. Congress Chemoth., Abstr. No. 367 (1977)

Rogers, H.J.; G.G.F. Newton & E.P. Abraham: Production and purification of bacilysin. Biochem. J. 97: 573-578 (1965)

Roncari, G. & H. Zuber: Thermophilic aminopeptidases from Bacillus stearothermophilus. I. Isolation, specificity, and general properties of the thermostable aminopeptidase. Int. J. Prot. Res. 1: 45-61 (1969)

Ronzio, R.A.; W.B. Rowe & A. Meister: Studies on the mechanism of inhibition of glutamine synthetase by methionine sulfoximine. Biochemistry 8: 1066-1075 (1969)

Rosen, B.P.: Basic amino acid transport in Escherichia coli. III. Properties of canavanine resistant mutants. J. Bacteriol. 116: 627-635 (1973)

Scannell, J.P.; D.L. Pruess, J.F. Blount, H.A. Ax, M. Kellett, F. Weiss, T.C. Demny, T.H. Williams & A. Stempel: Antimetabolites produced by microorganisms. XII. (S)-Alanyl-3-{α-(S)-chloro-3-(S)-hydroxy-2-oxo-3-azetidinylmethyl}-(S)-alanine, a new ß-lactam containing natural product. J. Antibiot. (Tokyo) 28: 1-6 (1975)

Schabel, F.M., Jr. & R.F. Pittillo: Screening for and biological characterization of antitumor agents using microorganisms. Adv. Appl. Microbiol. 3: 223-256 (1961)

Shah, R.; N. Neuss, M. Gorman & L.D. Boeck: Isolation, purification, and characterization of anticapsin. J. Antibiot. (Tokyo) 23: 613-617 (1970)

Shankman, S.; V. Gold, S. Higa & R. Squires: On the mode of action of a peptide inhibitor of growth of P. cerevisiae. Biochem. Biophys. Res. Commun. 9: 25-31 (1962)

Shankman, S.; S. Higa, H.A. Florsheim, Y. Schvo & V. Gold: Peptide studies. II. Growth promoting activity of peptides of L-leucine and L- and D-valine for lactic acid bacteria. Arch. Biochem. Biophys. 86: 204-209 (1960)

Shankman, S.; S. Higa & V. Gold: Peptide studies: Inhibition of bacterial growth by di- and tripeptides. Texas Rep. Biol. Med. 19: 358-369 (1961)

Shapiro, B.M. & E.R. Stadtman: The regulation of glutamine synthesis in microorganisms. Annu. Rev. Microbiol. 24: 501-524 (1970)

Sinden, S.L. & R.D. Durbin: Glutamine synthetase inhibition: Possible mode of action of wildfire toxin from Pseudomonas tabaci. Nature (Lond.) 219: 379-380 (1968)

Smith, R.L. & F.W. Dunn: Bacterial utilization of oligopeptides containing ß-2-thienylalanine and phenylalanine. J. Biol. Chem. 245: 2962-2966 (1970)

Stahl, E.: Dünnschichtchromatographie. Springer, Berlin, Heidelberg, New York (1967)

Staphley, E.O.; J.M. Mata, I.M. Miller, T.C. Demny & H.B. Woodruff: Antibiotic MSD-235. I. Production by Streptomyces avidinii and Streptomyces lavendulae. Antimicr. Agents Chemother. 1963: 20-27 (1964)

Staphley, E.O.; T.W. Miller, J.M. Mata & D. Hendlin: L-4-Oxalysine, an antimetabolic antibiotic of microbial origin. Antimicr. Agents Chemother. 1967: 401-406 (1968)

Stock, C.C.; H.C. Reilly, S.M. Buckley, D.A. Clarke & C.P. Rhoads: Azaserine a new tumor inhibitory substance. Studies with Crocker mouse sarcoma 180. Nature (Lond.) 173: 71-72 (1954)

Sussman, A.J. & C. Gilvarg: Peptide transport and metabolism in bacteria. Annu. Rev. Biochem. 40: 397-408 (1971)

Tabor, C.W. & H. Tabor: Transport systems for 1,4-diaminobutane, spermidine, and spermine in Escherichia coli. J. Biol. Chem. 241: 3714-3723 (1966)

Tanaka, N.; K. Sashikata, T. Wada, S.-I. Sugawara & H. Umezawa: Mechanism of action of O-carbamyl-D-serine. J. Antibiot. (Tokyo) 16: 217-221 (1963)

Taylor, P.A.; H.K. Schnoes & R.D. Durbin: Charakterization of chlorosis-inducing toxins from a plant pathogenic Pseudomonas sp. Biochim. Biophys. Acta 286: 107-117 (1972)

Umbarger, H.E.: Evidence for a negative-feedback mechanism in the biosynthesis of isoleucine. Science (Wash. D.C.) 123: 848 (1956)

Umbarger, H.E. & B. Brown: Isoleucine and valine metabolism in Escherichia coli. VII. Negative feedback mechanism controlling isoleucine biosynthesis. J. Biol. Chem. 233: 415-420 (1958)

Umbarger, H.E. & B.D. Davis: Pathways of amino acid biosynthesis. In: The bacteria (I.C. Gunsalus, R.Y. Stanier, eds.), Vol. III, pp. 167-251, Academic press, New York (1962)

VonderHaar, R.A. & H.E. Umbarger: Isoleucine and valine metabolism in Escherichia coli. XIX. Inhibition of isoleucine biosynthesis by glycylleucine. J. Bacteriol. 112: 142-147 (1972)

Wagner, F.W.; A. Chung & L.E. Ray: Charakterization of the aminopeptidase from Bacillus subtilis as a extracellular enzyme. Can. J. Microbiol. 18: 1883-1891 (1972)

Wang, E. & C. Walsh: Suicide substrates for the alanine racemase of Escherichia coli B. Biochemistry 17: 1313-1321 (1978)

Wargel, R.J.; G.A. Shadur & F.C. Neuhaus: Mechanism of D-cycloserine action: Transport mutants for D-alanine, D-cycloserine, and glycine. J. Bacteriol. 105: 1028-1035 (1971)

Weiner, J.H. & L.A. Heppel: A binding protein for glutamine and its relation to active transport in Escherichia coli. J. Biol. Chem. 246: 6933-6941 (1971)

Werner, R.G. & W. Reuter: Interaction of indolmycin in the metabolism of tryptophan in rat liver. Arzneim.-forsch. 29: 59-63 (1979)

Wolfinbarger, L. & G. Marzluf: Size restriction on utilization of peptides by amino acid auxotrophs of Neurospora crassa. J. Bacteriol. 122: 949-956 (1975)

Wolfinbarger, L. & G. Marzluf: Specificity and regulation of peptide transport in Neurospora crassa. Arch. Biochem. Biophys. 171: 637-644 (1976)

Yaron, A. & D. Mlynar: Aminopeptidase P. Biochem. Biophys. Res. Commun. 32: 658-663 (1968)

Yaron, A.; D. Mlynar & A. Berger: A dipeptidocarboxypeptidase from E. coli. Biochem. Biophys. Res. Commun. 47: 897-902 (1972)

Zähner, H.: Persönliche Mitteilung (1979)

Zähner, H.; R. Hütter & E. Bachmann: Stoffwechselprodukte von Actinomyceten. 23. Mitteilung: Zur Kenntnis der Sideromycinwirkung. Arch. Microbiol. 36: 325-349 (1960)

Zähner, H. & W.K. Maas: Biology of antibiotics. Springer, New York, Heidelberg, Berlin (1972)

Zimmermann, W. & F. Knüsel: Permeability of Staphylococcus aureus to the sideromycin antibiotic A 22765. Arch. Microbiol. 68: 107-112 (1969)

7. A N H A N G

Hemmstoffe natürlich vorkommender Aminosäuren

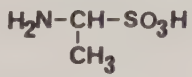
Die tabellarisch angeordneten Hemmstoffe enthalten folgende Aussagen:

a) Quelle (Produzent/Synthese),
b) verwendete Testsysteme,
c) weitere die toxische Wirkung aufhebende Aminosäuren,
d) Wirkort und
e) Hinweise.

Weiterhin sind der Name (evtl. auch Trivialnamen), die Struktur sowie Literaturkurzzitate enthalten.

7.1. Alanin

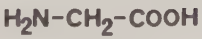
α-Aminoäthansulfonsäure



a) Synthese
b) Bakterien
c) -
d) -
e) -

McIlwain, H.: Br. J. Exp. Pathol. 22: 148 (1941)
Raschig, F. & W. Prahl: Ann. Chem. (Justus Liebigs) 448: 265 (1926)

Glycin

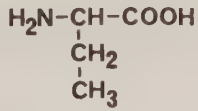


a) Synthese
b) Escherichia coli, Staphylococcus aureus
c) D-Ala
d) -
e) -

Kobayashi, Y. et al.: J. Biol. Chem. 174: 391 (1945)
Snell, E.E. & B.M. Guirard: Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 29: 66 (1943)

7.2. D-Alanin

D-α-Aminobuttersäure



a) Synthese

b) Zellwandsystem

c) -

d) Hemmung der bakteriellen Zellwandbiosynthese

e) -

Snell, E.E. et al.: J. Biol. Chem. 217: 803 (1955)

D-4-Amino-3-isoxazolidinon

Oxamycin, Cycloserin, D-Cycloserin

a) verschiedene Streptomyces spec. / Synthese

b) Bacillus spec., Mycobakterien, Streptococcus faecalis, Katalase, Zellwandsystem

c) Ala

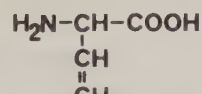
d) reversible Hemmungen der Alaninracemase, der Alaninsynthetase und der D-Alanin-D-Glutamat-Transaminase

e) Transportstudien, Synergismus mit O-Carbamyl-D-serin

Andrejew, A. et al.: Biochim. Biophys. Acta 30: 102 (1958)
Bondi, A. et al.: Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 96: 270 (1957)
Curtiss, R. et al.: J. Bacteriol. 90: 1238 (1965)
Harned, R.L. et al.: Antibiot. Chemother. (Wash. D.C.) 5: 204 (1955)
Harris, D.A. et al.: Antibiot. Chemother. (Wash. D.C.) 5: 183 (1955)
Kurosawa, H.: J. Antibiot. (Tokyo) 5: 682 (1952)
Martinez-Carrion, M. & W.T. Jenkins: J. Biol. Chem. 240: 3547 (1965)
Moulder, J.W. et al.: J. Bacteriol. 85: 707 (1963)
Neuhaus, F.C.: in: Antibiotics (D. Gottlieb, P.D. Shaw, eds.), Vol. I, p.40, Springer, Berlin, New York (1967)
Neuhaus, F.C.: Antimicr. Agents Chemother. 1967: 304 (1968)
Neuhaus, F.C. & J.L. Lynch: Biochem. Biophys. Res. Commun. 8: 377 (1962)
Neuhaus, F.C. & J.L. Lynch: Biochemistry 3: 471 (1964)
Shockman, G.D.: Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 101: 693 (1959)
Shull, G.M. & J.L. Sardinas: Antibiot. Chemother. (Wash. D.C.) 5: 398 (1955)
Stammer, C.H. et al.: J. Am. Chem. Soc. 77: 2346 (1955)
Strominger, J.L. et al.: J. Am. Chem. Soc. 81: 3803 (1959)
Tanaka, N. & K. Sashikata: J. Gen. Appl. Microbiol. 9: 409 (1963)
Wargel, R.J. et al.: J. Bacteriol. 105: 1028 (1971)

Wargel, R.J. et al.: J. Bacteriol. 103: 778 (1970)
Yonaha, K. et al.: J. Biol. Chem. 250: 6983 (1975)
Zygmunt, W.A.: J. Bacteriol. 84: 154 (1962)
Zygmunt, W.A.: J. Bacteriol. 85: 1217 (1963)

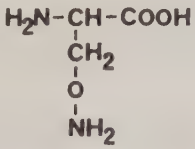
D-Vinylglycin



a) Synthese
b) Enzymtest
c) -
d) Hemmung der D-AS-Transaminase
e) -

Soper, T.S. et al.: J. Biol. Chem. 252: 3170 (1977)

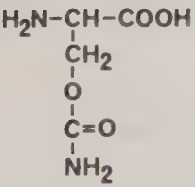
ß-Aminoxy-D-alanin



a) Syntese
b) Enzyme aus Escherichia coli und Streptococcus faecalis
c) -
d) Hemmung der Alaninsynthetase
e) weitere Hydroxylaminderivate als Alaninracemasehemmstoffe von Escherichia coli beschrieben

Free, C.A. et al.: Biochim. Biophys. Acta 146: 608 (1967)
Lambert, M.P. & F.C. Neuhaus: J. Bacteriol. 110: 978 (1972)
Neuhaus, F.C. & J.L. Lynch: Biochemistry 3: 471 (1964)

O-Carbamyl-D-serin

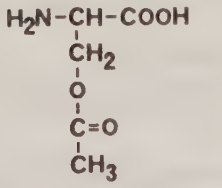


a) Streptomyces polychromogenes, Streptomyces fradiae, Streptomyces narbonensis, Streptomyces venezuelae (Tü 1753), verschiedene Streptomyces spec. / Synthese
b) grampositive Bakterien, Mycobakterien, Zellwandsystem
c) Ala, His, Met, Try, Glu-NH_2, D-Ala-D-ala, D-Ser, α-Aminobuttersäure
d) reversible Hemmung der Alaninracemase
e) Synergismus mit Cycloserin, Ala-ala-(O-carbamyl)-D-ser inaktiv

Dorgerloh, M.: Dissertation, Universität Tübingen (1980)
Hagemann, G. et al.: Offenlegungsschrift DT (82172) L. 22713 IV a / 30 h (1958)

Hagemann, G. et al.: Biochim. Biophys. Acta 17: 240 (1955)
Jones, A. & G.W. Gould: J. Gen. Microbiol. 53: 383 (1968)
Lampert, M.P. & F.C. Neuhaus: J. Bacteriol. 110: 978 (1972)
Lynch, J.L. & F.C. Neuhaus: J. Bacteriol. 91: 449 (1966)
Neuhaus, F.C.: in: Antibiotics (D. Gottlieb, P.D. Shaw, eds.), Vol. I, p. 40, Springer, Berlin, New York (1967)
Neuhaus, F.C.: Antimicr. Agents Chemother. 1967: 304 (1968)
Okami, Y. et al.: J. Antibiot. (Tokyo) Ser. A 15: 147 (1962)
Shoji, J.-I. et al.: J. Antibiot. (Tokyo) 21: 170 (1968)
Skinner, C.G. et al.: J. Am. Chem. Soc. 78: 2412 (1956)
Tanaka, N.: Biochem. Biophys. Res. Commun. 12: 68 (1963)
Tanaka, N. & K. Sashikata: J. Gen. Appl. Microbiol. 9: 409 (1963)
Wang, E. & C. Walsh: Biochemistry 17: 1313 (1978)

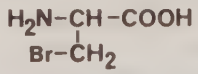
O-Acetyl-D-serin



a) Synthese
b) Alaninracemase aus Escherichia coli B
c) -
d) Hemmung der Alaninracemase
e) -

Sakami, W. & G. Toennies: J. Biol. Chem. 144: 203 (1942)
Shoji, J.-I. et al.: J. Antibiot. (Tokyo) 21: 170 (1968)
Wang, E. & C. Walsh: Biochemistry 17: 1313 (1978)

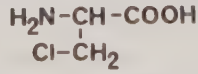
ß-Brom-D-alanin



a) Synthese
b) Enzymtest
c) -
d) Hemmung der D-AS-Transaminase
e) -

Manning, J.M. & T.S. Soper: Substrate-iduced irreversible inactivation of enzymes, in press, Elsevier (1979)
Soper, T.S. & J.M. Manning: Biochemistry 17: 3377 (1978)

ß-Chlor-D-alanin

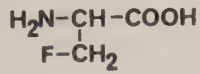


a) Synthese
b) Enzymtest
c) -
d) irreversible Hemmungen der Alaninracemase und einer D-AS-Transaminase
e) -

Henderson, L.L. & R.B. Johnston: Biochem. Biophys. Res. Commun. 68: 793 (1976)
Kaczorowski, G. et al.: J. Biol. Chem. 250: 8921 (1975)

Manning, J.M. et al.: Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 71: 417 (1974)
Manning, J.M. & T.S. Soper: Substrate- induced irreversible inactivation of enzymes, in press, Elsevier (1979)
Soper, T.S. & J.M. Manning: Biochemistry 17: 3377 (1978)
Soper, T.S. et al.: J. Biol. Chem. 252: 1571 (1977)
Wang, E. & C. Walsh: Biochemistry 17: 1313 (1978)
Yonaha, K. et al.: J. Biol. Chem. 250: 6983 (1975)

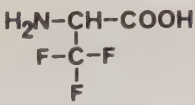
ß-Fluor-D-alanin



a) Synthese
b) Enzymtest
c) -
d) irreversible Hemmung der Alaninracemase
e) -

Kollonitsch, J. & L. Barash: J. Am. Chem. Soc. 98: 5591 (1976)
Wang, E. & C. Walsh: Biochemistry 17: 1313 (1978)

Trifluor-D,L-alanin

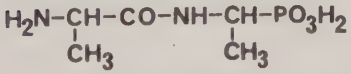


a) Synthese
b) Enzymtest
c) -
d) Hemmung der Alaninracemase
e) -

Silverman, R.B. & R.H. Abeles: Biochemistry 15: 4718 (1976)

S-Alanyl-R-aminoäthylphosphonsäure

Ro 03-7008, Alaphosphin, Alafosfalin



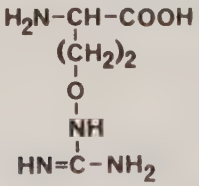
a) Synthese
b) Escherichia coli, Serratia, Klebsiella, Enterobacter, Enterococcus, Providence, Citrobacter, Haemophilus, Neisseria, Salmonella, Shigella, Staphylococcus, Micrococcus, Proteus, Pseudomonas, Escherichia coli K-12
c) -
d) Alaninanaloge Hälfte hemmt nach der Hydrolyse die Alaninracemase, die Alanyl-UDP-muramylligase und sekundär die UDP-N-Acetylmuramyl-L-alaninsynthetase
e) in vitro Synergismus mit ß-Lactamantibiotika, Transportstudien, Struktur-Wirkungs-Bezie-

hungen, ca. 300 Derivate als Di- bis Hexapeptide mit verschiedenen AS-Untereinheiten synthetisiert

Allen, J.G. et al.: Nature (Lond.) 272: 56 (1978)
Allen, J.G. et al.: Roche Products Ltd., UK, No. 366 (1977)
Allen, J.G. et al.: Antimicr. Agents Chemother. 15: 684 (1979)
Atherton, F.R. et al.: Antimicr. Agents Chemother. 15:696 (1979)
Atherton, F.R. et al.: Antimicr. Agents Chemother. 15: 677 (1979)
Diddens, H. et al.: J. Antibiot. (Tokyo) 32: 87 (1979)
Dorgerloh, M.: Dissertation, Universität Tübingen (1980)
Hassall, C.H. et al.: Roche Products Ltd., UK, No. 365 (1977)
Maruyama, H.B. et al.: Antimicr. Agents Chemother. 16: 444 (1979)
Ringrose, P.S. et al.: Roche Products Ltd., UK, No. 367 (1977)

7.3. Arginin

2-Amino-4-(guanidinooxy)-buttersäure



Canavanin

a) verschiedene Leguminosen, Pferdebohnen, Jacobsbohnen (Canavalia ensiformis)

b) Escherichia coli, Lactobacillus spec., Hefen, Neurospora crassa, Carcinosarcom, Tiere, Pflanzen, Gewebekulturen

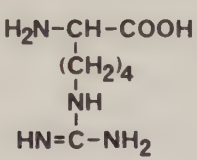
c) -

d) Hemmung des Arg-Metabolismus, Veränderung von Gewebekulturoberflächen, Einbau ins Protein von Staphylococcus aureus

e) Canalin entsteht als enzymatisches Abbauprodukt (Arginase aus Leber) und ist inaktiv

Bonner, J.: Am. J. Bot. 36: 323 (1949)
Bonner, J.: Am. J. Bot. 36: 429 (1949)
Kitagawa, M. & T. Tomiyama: J. Biochem. (Tokyo) 11: 269 (1929)
Kruse, P.F., jr. et al.: Cancer Res. 19: 122 (1959)
Miller, E.J. & J.S. Harrison: Nature (Lond.) 166: 1035 (1950)
Morgan, J.F. et al.: J. Biol. Chem. 233: 664 (1958)
Ogawa, M.: J. Agric. Chem. Soc. Jpn. 10: 225 (1934)
Ogawa, M.: J. Agric. Chem. Soc. Jpn. 11: 11 (1935)
Ogawa, M.: J. Agric. Chem. Soc. Jpn. 11: 558 (1935)
Richmond, M.H.: Biochem. J. 73: 261 (1959)
Rosen, B.P.: J. Bacteriol. 116: 627 (1973)
Steward, F.C. et al.: Biochim. Biophys. Acta 28: 308 (1958)
Teas, H.J.: J. Biol. Chem. 190: 369 (1951)
Volcani, B.E. & E.E. Snell: J. Biol. Chem. 174: 893 (1948)
Walker, J.B.: J. Biol. Chem. 212: 207 (1955)

2-Amino-6-guanidino-n-capronsäure — Homoarginin



a) verschied. Lathyrus spec., L. cicerea, L. sativus / Synthese

b) Escherichia coli B, Chlorella vulgaris, Ninhydrinreaktion

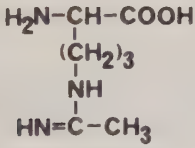
c) Lys

d) kein Einbau ins Protein von Tieren

e) weitere ninhydrinpositive toxische Verbindungen aus verschied. Lathyrusarten isoliert

Bell, E.A.: Biochem.J. 83: 225 (1961)
Bell, E.A.: Biochem. J. 85: 91 (1962)
Pardee, A.B. & L.S. Prestidge: Biochim. Biophys. Acta 27: 330 (1958)
Rao, S.L.N. et al.: Biochemistry 2: 298 (1963)
Walker, J.B.: J. Biol. Chem. 212: 207 (1955)
Walker, J.B.: J. Biol. Chem. 212: 617 (1955)

L-N^5-(1-Iminoäthyl)-ornithin



a) Streptomyces spec. 7-25 / Synthese

b) Escherichia coli B

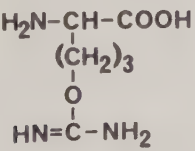
c) Citrullin, Orn, N^2-Acetyl-orn

d) vermutlich Hemmung eines oder mehrerer enzymatischer Schritte der Arg-Biosynthese

e) ähnlich Canavanin aus Leguminosensamen

Scannell, J.P. et al.: J. Antibiot. (Tokyo) 25: 179 (1972)

O-(L-Norvalyl-5)-isoharnstoff — NIH



a) unidentifiziertes gramnegatives Bakterium (Tü 222) / Synthese

b) Escherichia coli, Bacillus subtilis, Pseudomonas aeruginosa, Pilze

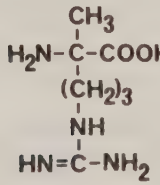
c) Orn, Citrullin

d) -

e) -

Müller, G.: Dissertation, Universität Tübingen (1973)
König, W.A. et al.: J. Antibiot. (Tokyo) 26: 44 (1973)

2-Methyl-L-arginin



a) Streptomyces spec. X-11837 / Synthese

b) Bacillus subtilis ATCC 27860, Escherichia coli B, Mycobakterien

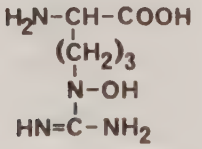
c) Citrullin, Orn, N^2-Acetyl-orn

d) ähnlicher Mechanismus wie bei N^5-Hydroxyarginin vermutet

e) L-N^5-Hydroxyarginin und 2-Methyl-L-arginin wurden durch Synthese zu N^5-Hydroxy-2-methyl-D,L-arginin kombiniert, Verbindung jedoch in vivo und in vitro inaktiv

Ellington, J.J. & I.L. Honigberg: J. Org. Chem. 39: 104 (1974)
Maehr, H. et al.: J. Antibiot. (Tokyo) 29: 213 (1976)
Maehr, H. et al.: J. Antibiot. (Tokyo) 29: 221 (1976)

L-N^5-Hydroxyarginin



a) Bacillus spec., Nannizzia gypsea / Synthese

b) Escherichia coli, Escherichia coli B

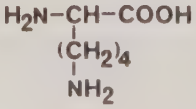
c) Citrullin, Orn, N^2-Acetyl-orn

d) ähnlicher Mechanismus wie bei 2-Methyl-L-arginin vermutet

e) N^5-Hydroxy-L-arginin und 2-Methyl-L-arginin sind Arg-Antagonisten; Kombination durch Synthese schien sinnvoll, Verbindung jedoch in vivo und in vitro inaktiv

Fischer, B.: Dissertation, Universität Tübingen (1974)
Fischer, B. et al.: Arch. Microbiol. 91: 203 (1973)
Maehr, H. et al.: J. Antibiot. (Tokyo) 26: 284 (1973)
Maehr, H. & M. Leach: J. Org. Chem. 39: 1166 (1974)
Maehr, H. & M. Leach: J. Antibiot. (Tokyo) 31: 165 (1978)
Widmer, J. & W. Keller-Schierlein: Helv. Chim. Acta 57: 657 (1974)

Lysin



a) Synthese

b) Arginase

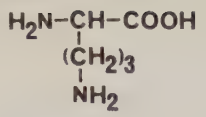
c) -

d) Hemmung der Arginase

e) -

Hunter, A. & C.E. Downs: J. Biol. Chem. 157: 427 (1945)

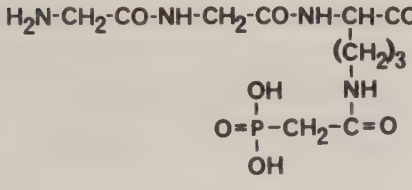
Ornithin



a) Synthese
b) Arginase
c) -
d) Hemmung der Arginase
e) -

Gross, R.E.: Z. Physiol. Chem. 112: 236 (1921)

Gly-gly-N-δ-(phosphonoacetyl)-L-ornithin — GlyGlyPALO

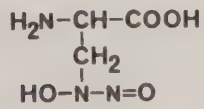


a) Synthese
b) Escherichia coli K-12
c) Citrullin
d) Hemmung der Orn-Carbamoyltransferase nach Aufnahme via opt und Hydrolyse des Peptids
e) N-δ-(Phosphonoacetyl)-L-orn nur in vitro biologisch aktiv

Penninckx, M. & D. Gigot: J. Biol. Chem. 254: 6392 (1979)

7.4. Asparaginsäure

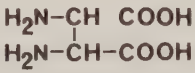
L-2-Amino-3(N-nitroso)-hydroxyaminopropionsäure — Alanosin



a) Streptomyces alanosinicus ATCC 15710 / Synthese
b) Candida albicans
c) Glu-COOH, Pyridoxalphosphat, Adenin
Hemmung der Aspartat-Transcarbamylase und der Adenylosuccinat-Synthetase postuliert; Hemmung der Glu-COOH-Carboxylyase gezeigt
e) Hemmung der RNA-Adenin-Synthese nicht antagonisiert durch Glu-NH_2 oder Asp-COOH

Coronelli, C. et al.: Farm. Ed. Sci. 21: 269 (1966)
Eaton, C.N. et al.: J. Med. Chem. 16: 289 (1973)
Gale, G.R. & L.M. Atkins: Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 129: 842 (1968)
Gale, G.R. et al.: Biochem. Pharmacol. 17: 1823 (1968)
Gale, G.R. & G.B. Smidt: Biochem. Pharmacol. 17: 363 (1968)
Gale, G.R. & A.B. Smith: Biochem. Pharmacol. 17: 2495 (1968)
Isowa, Y. et al.: Bull. Chem. Soc. Jpn. 46: 1847 (1973)
Murthy, Y.K.S. et al.: Nature (Lond.) 211: 1198 (1966)
Powis, G. & M.M. Ames: J. Chromatogr. 170: 195 (1979)
Thiemann, J.E. & G. Beretta: J. Antibiot. (Tokyo) Ser. A 19: 155 (1966)

2,3-Diaminobernsteinsäure



a) Streptomyces rimosus / Synthese

b) Escherichia coli

c) -

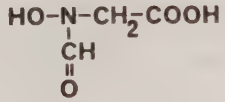
d) -

e) -

Hochstein, F.A.: J. Org. Chem. 24: 679 (1959)
McKennis, H. & A.S. Yard: J. Org. Chem. 23: 980 (1958)
Shive, W. & J. Macow: J. Biol. Chem. 162: 451 (1946)

N-Formyl-N-hydroxyglycin

Hadacidin



a) verschiedene Penicillium spec., P. frequentans, P. purpurescens, P. aurantio-violaceum, P. lividum / Synthese

b) Escherichia coli, Euglena, KB-Zellen

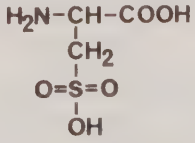
c) Adenin

d) Hemmung der Adenylo-Succinat-Synthetase

e) -

Dulaney, E.L. & R.A. Gray: Mycologia 54: 476 (1962)
Gitterman, C.O. et al.: Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 109: 852 (1962)
Gray, R.A. et al.: Plant Physiol. (Bethesda) 39: 204 (1964)
Kaczka, E.A. et al.: Biochemistry 1: 340 (1962)
Mego, L.: Biochim. Biophys. Acta 79: 221 (1964)
Neuman, R.E. & A.A. Tytell: Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 112: 57 (1963)
Shigeura, H.T.: Arch. Biochem. Biophys. 100: 472 (1963)
Shigeura, H.T.: in: Antibiotics (D. Gottlieb, P.D. Shaw, eds.), Vol. I, p. 451, Springer, Berlin, New York (1967)
Shigeura, H.T. & C.N. Gordon: J. Biol. Chem. 237: 1932 (1962)
Stevens, R.L. & T.F. Emery: Biochemistry 5: 74 (1966)

Cysteinsäure



a) Synthese

b) Escherichia coli, Lactobacillus arabinosus

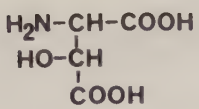
c) Asp-NH_2, Gly-asp-NH_2, Glu-COOH

d) Hemmung der Asp-COOH-Biosynthese

e) Synergismus mit ß-Hydroxy-Asp-COOH

Ifland, P.W. & W. Shive: J. Biol. Chem. 223: 949 (1956)
McIlwain, H.: Br. J. Exp. Pathol. 22: 148 (1941)
McIlwain, H.: J. Chem. Soc. (Lond.) 1941: 75 (1941)
Shive, W. et al.: J. Am. Chem. Soc. 69: 2567 (1947)

L-threo-ß-Hydroxyasparaginsäure



a) Arthrinium phaeospermum, Streptomyces spec. 7549 - MC/1 / Synthese

b) Bacillus subtilis, Xanthomonas oryzae, Mycobacterium phlei, Botrytis cinerea, Lactobacillus arabinosus

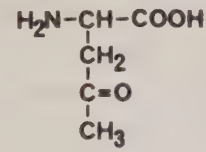
c) -

d) -

e) inaktiv gegen Escherichia coli, Staphylococcus aureus, Mucor, Candida albicans; Synergismus mit Cysteinsäure

Ifland, P.W. & W. Shive: J. Biol. Chem. 223: 949 (1956)
Ishiyama, T. et al.: J. Antibiot. (Tokyo) 28: 821 (1975)
Otani, T.T.: Arch. Biochem. Biophys. 101: 131 (1961)
Shive, W. & J. Macow: J. Biol. Chem. 162: 452 (1946)

α-Aminolävulinsäure



a) Synthese

b) Escherichia coli, Hefen

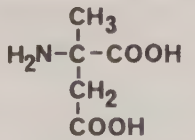
c) -

d) -

e) -

Dittmer, K.: Ann. N.Y. Acad. Sci. 52: 1274 (1950)

α-Methylasparaginsäure



a) Synthese

b) Bakterien

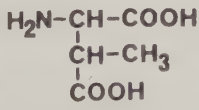
c) -

d) -

e) -

Roberts, E. & P.F. Hunter: Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 83: 720 (1953)

ß-Methylasparaginsäure



a) Synthese

b) Escherichia coli B

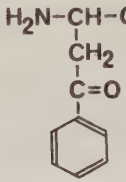
c) Asp-NH_2, His, Glu-COOH

d) Hemmung der Pyrimidinbiosynthese

e) -

Wooley, D.W.: J. Biol. Chem. 235: 3238 (1960)

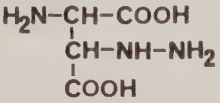
Aspartophenon



a) Synthese
b) Escherichia coli, Hefen
c) -
d) -
e) Verbindung ist erst nach Hitzebehandlung biologisch aktiv

Dittmer, K.: Ann. N.Y. Acad. Sci. 52: 52: 1274 (1950)

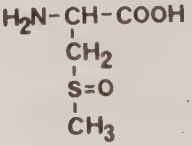
ß-Asparaginsäurehydrazid



a) Synthese
b) Bakterien
c) -
d) -
e) -

Roberts, E. & P.F. Hunter: Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 83: 720 (1953)

S-Methyl-L-cysteinsulfoxid

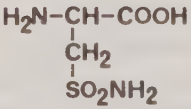


a) Rüben, Kohl
b) Leuconostoc mesenteroides ATCC 8042
c) -
d) Hemmung der Asp-COOH-Verwertung
e) -

Arnold, W.N. et al.: Nature (Lond.) 186: 1051 (1960)
Morris, C.J. & J.F. Thompson: J. Am. Chem. Soc. 78: 1605 (1956)

7.5. Asparagin

L-2-Amino-2-carboxyäthylsulfonamid

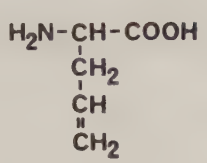


a) Synthese
b) Neurospora strain S 1007, Eremothecium ashbyii
c) -
d) Hemmung einer Serumasparaginase
e) inaktiv gegen Mycobacterium tuberculosis und andere pathogene Mikroorganismen

Heymann, H. et al.: J. Am. Chem. Soc. 81: 5125 (1959)

7.6. Cystein

Allylglycin



a) Synthese

b) Escherichia coli N, Escherichia coli T, Escherichia coli ATCC 9723, Saccharomyces cerevisiae strain 139

c) -

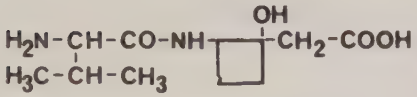
d) -

e) -

Dittmer, K. et al.: J. Am. Chem. Soc. 70: 2499 (1948)

1-(S)-Hydroxy-2-(S,S)-valyl-amidocyclobutan-1-essigsäure

Ro 20-8356, X-1092



a) Streptomyces spec. X-1092

b) grampositive Bakterien, Escherichia coli K-12

c) Met

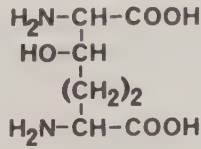
d) -

e) Transportstudien, inaktiv gegen gramnegative Bakterien und Pilze, bei Escherichia coli K-12 wirkt Val nach Hydrolyse toxisch

Dorgerloh, M.: Dissertation, Universität Tübingen (1980)
Dow Chemical: U.S. 3,939,139 (17.2.1976)
Pruess, D.L. et al.: J. Antibiot. (Tokyo) 27: 754 (1974)

7.7. Diaminopimelinsäure

β-Hydroxy-α,ε-diaminopimelinsäure



a) Synthese

b) Escherichia coli

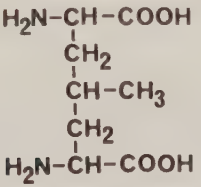
c) -

d) -

e) -

Rhuland, L.E.: J. Bacteriol. 73: 778 (1957)

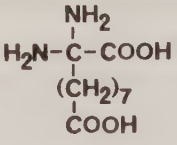
γ-Methyl-α,ε-diaminopimelinsäure



a) Synthese
b) Escherichia coli
c) -
d) Einbau in die Zellwand von Escherichia coli anstatt DAP
e) -

Rhuland, L.E. & R.D. Hamilton: Biochim. Biophys. Acta 51: 525 (1961)

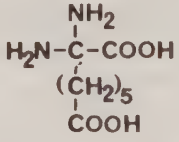
α,α'-Diaminosebacinsäure



a) Synthese
b) Bakterien
c) -
d) -
e) -

Simmonds, D.H.: Biochem. J. 58: 520 (1954)

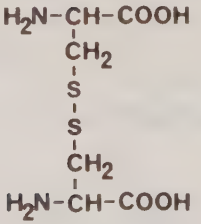
α,α'-Diaminokorksäure



a) Synthese
b) Bakterien
c) -
d) -
e) -

Simmonds, D.H.: Biochem. J. 58: 520 (1954)

Cystin

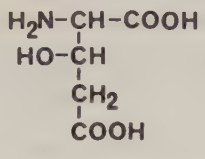


a) Synthese
b) Escherichia coli
c) -
d) reversible Hemmung des Wachstums von Escherichia coli DAP
e) -

Meadow, P. et al.: Biochem. J. 66: 270 (1957)

7.8. Glutaminsäure

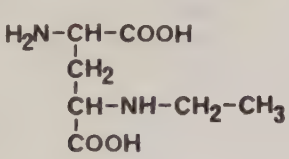
ß-Hydroxyglutaminsäure



a) Synthese
b) Lactobacillus arabinosus
c) -
d) Hemmung der Glutaminsynthetase
e) -

Ayengar, P. & E. Roberts: Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 79: 476 (1952)
Borek, E. & H. Waelsch: J. Biol. Chem. 177: 135 (1949)

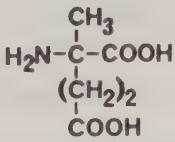
D,L-N-(γ-Glutamyl)-äthylamin



a) Synthese
b) Staphylococcus aureus
c) -
d) -
e) D,L-N-(γ-Glutamyl)-äthanolamin wurde ebenfalls synthetisiert und zeigte die gleiche biologische Aktivität

Lichtenstein, N. & N. Grossowicz: J. Biol. Chem. 171: 387 (1947)

α-Methyl-glutaminsäure

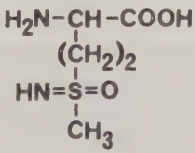


a) Synthese
b) Enzyme
c) -
d) Hemmung des Schafshirntransferasesystems, das Hydroxylamin in Glutamohydroxamsäure umwandelt
e) D-Glu-COOH hemmt ebenfalls Transferasesystem

Lichtenstein, N. et al.: Nature (Lond.) 171: 45 (1953)
Lichtenstein, N. et al.: J. Biol. Chem. 201: 117 (1953)
Roberts, E.: J. Biol. Chem. 202: 359 (1953)

L-Methionin-S-sulfoximin

MSI



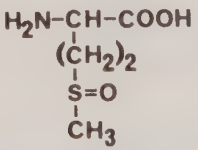
a) aus Maiskleber (Zein) / Synthese
b) Tribolium confusum, Leuconostoc mesenteroides, Samenkeimung, Bakterien
c) Met

d) Hemmung der Glutaminsynthetase und der γ-Glutamyl-cysteinsynthetase unter Bildung irreversibler enzymgebundener Methioninsulfoximinphosphatkomplexe

e) etwa 20 Sulfoximin- und Methioninderivate mit selektiver Wirkung auf jedes der beiden Enzyme synthetisiert

Anderson, M.E. & O.W. Griffith: Fed. Proc. 37: 385 (1978)
Bentley, H.R. et al.: Nature (Lond.) 164: 438 (1949)
Griffith, O.W. & A. Meister: J. Biol. Chem. 253: 2333 (1978)
Griffith, O.W. et al.: J. Biol. Chem. 254: 1205 (1979)
Heathcote, J.G.: Nature (Lond.) 164: 439 (1949)
Heathcote, J.G.: Lancet 257: 1130 (1949)
Heathcote, J.G. & J. Pace: Nature (Lond.) 166: 353 (1950)
Manning, J.M. et al.: Biochemistry 8: 2681 (1969)
Meister, A. & O.W. Griffith: Cancer Treat. Rep. 63: 1115 (1979)
Meister, A. & S.S. Tate: Annu. Rev. Biochem. 45: 559 (1976)
Pace, J. & McDermott: Nature (Lond.) 169: 415 (1952)
Richman, P.G. et al.: J. Biol. Chem. 248: 6684 (1973)
Ronzio, R. et al.: Biochemistry 8: 1066 (1969)
Ronzio, R. & A. Meister: Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 59: 164 (1968)
Rowe, W.B. et al.: Biochemistry 8: 2674 (1969)

Methioninsulfoxid



a) Synthese

b) Bakterien, Lactobacillus arabinosus, verschiedene Streptococcus spec., Glutaminsynthetase

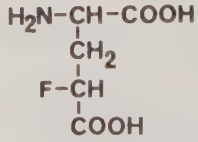
c) -

d) Hemmung der Glutaminsynthetase

e) -

Borek, E. et al.: J. Biol. Chem. 163: 347 (1946)
Borek, E. & H. Waelsch: Arch. Biochem. Biophys. 14: 143 (1947)
Elliot, W.H. & E.F. Gale: Nature (Lond.) 161: 129 (1948)
Waelsch, H. et al.: J. Biol. Chem. 166: 273 (1946)

γ-Fluorglutaminsäure



a) Synthese

b) Glutaminsynthetase

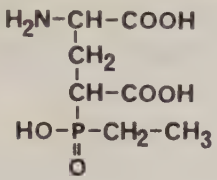
c) -

d) Hemmung der Glutaminsynthetase

e) inaktiv gegen Bakterien, Maus, Viren, Tumorzellen

Buchanan, R.L. et al.: Can. J. Chem. 40: 1571 (1962)

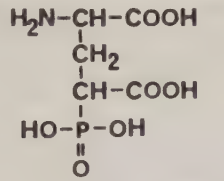
P-Äthyl-γ-phosphono-glutaminsäure



a) Synthese
b) Glutaminsynthetase
c) -
d) Hemmung der Glutaminsynthetase
e) -

Mastalerz, P.: Arch. Immunol. Ter. Dosw. 7: 201 (1959)

γ-Phosphono-glutaminsäure

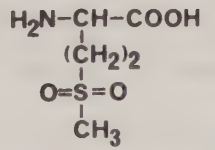


a) Synthese
b) Glutaminsynthetase
c) -
d) Hemmung der Glutaminsynthetase
e) -

Mastalerz, P.: Arch. Immunol. Ter. Dosw. 7: 201 (1959)

7.9. Glutamin

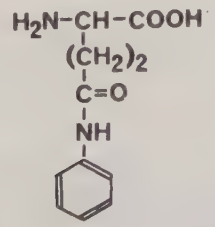
L-Methionin-S-dioxid



a) Synthese
b) Escherichia coli K-12
c) Met
d) Hemmung der Glutaminsynthetase bei Escherichia coli
e) Transportstudien

Diddens, H. et al.: Eur. J. Biochem. 66: 11 (1976)
Ronzio, R.A. et al.: Biochemistry 8: 1066 (1969)

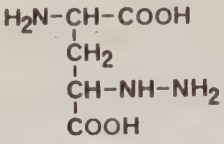
N-Benzylglutamin



a) Synthese
b) Streptococcus lactis
c) -
d) -
e) -

Edelson, J. et al.: J. Med. Pharm. Chem. 1: 165 (1959)

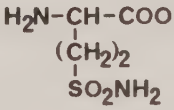
γ-Glutaminsäurehydrazid



a) Synthese
b) Streptococcus faecalis
c) -
d) -
e) -

McIlwain, H. et al.: Biochem. J. 42: 492 (1948)

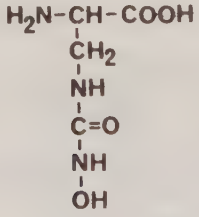
3-Amino-3-carboxypropylsulfonamid



a) Synthese
b) Escherichia coli ATCC 11303, T_2-Coliphage
c) Glu-COOH
d) -
e) Synthese weiterer biologisch jedoch inaktiver sulfonamid-enthaltender α-Aminosäuren

Reisner, D.B.: J. Am. Chem. Soc. 78: 5102 (1956)

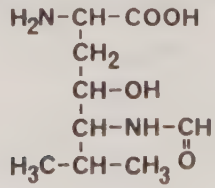
L-ß(3-Hydroxyureido)-alanin SF-1293 B



a) Streptomyces spec. 86, Streptomyces hygroscopicus SF-1293 (Ferm.-P. 996, ATCC 21705) / Synthese
b) grampositive und gramnegative Bakterien und Pilze
c) Asp-COOH, Glu-COOH, Asp-NH_2
d) -
e) Stamm produziert auch PTC-ala-ala

Inouye, S. et al.: Chem. Pharm. Bull. (Tokyo) 23: 2669 (1975)
Shomura, T. et al.: Offenlegungsschrift (Meiji Seika) Japan Kokai: 75-13,592 (13.2.1975)

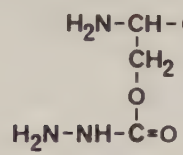
ohne Namen



a) Nannizzia gypsea / Synthese
b) Bacillus subtilis ATCC 6051
c) -
d) -
e) synergistische Effekte mit L-N^5-Hydroxyarginin; Stamm produziert auch L-N^5-Hydroxy-arginin

Fischer, B.: Dissertation, Universität Tübingen (1974)
Zähner, H.: Persönliche Mitteilung (1979)

O-Carbazyl-D,L-serin



a) Synthese

b) Tumorzellen, Streptococcus lactis, Lactobacillus arabinosus

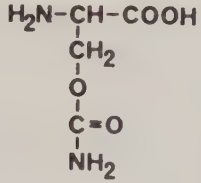
c) -

d) Hemmung von Biosyntheseenzymen, in denen Glu-COOH eine essentielle Rolle spielt

e) Verbindung ist lebertoxisch

McCord, T.J. et al.: J. Am. Chem. Soc. 80: 3762 (1958)

O-Carbamyl-L-serin



a) Synthese

b) Streptococcus lactis, Lactobacillus arabinosus, Escherichia coli

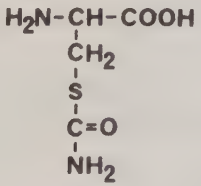
c) Glu-COOH

d) Hemmung der de-novo-Purinbiosynthese

e) -

Skinner, C.G. et al.: J. Am. Chem. Soc. 78: 2412 (1956)

S-Carbamyl-L-cystein



a) Synthese

b) Lactobacillus arabinosus, Streptococcus lactis, Ascites-Zellen

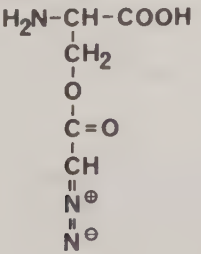
c) -

d) -

e) -

Rabinovitz, M. & J.M. Fisher: J. Natl. Cancer Inst. 28: 1165 (1962)
Ravel, J.M. et al.: J. Biol. Chem. 232: 159 (1958)

O-Diazoacetyl-L-serin



Azaserin

a) Streptomyces fragilis / Synthese

b) grampositive und gramnegative Bakterien, Mycobakterien, Pilze, Amoeben, Tumorzellen

c) Arg, Glu-COOH, Phe

d) Hemmung der de-novo-Purinbiosynthese, Hemmung der Glutaminamidotransferase und der γ-Glu-

tamyltranspeptidase

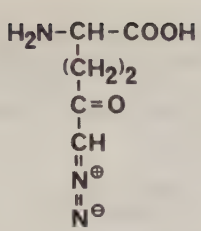
e) Synergismus zu anderen Antimetaboliten; Transport via Permease für aromatische AS bei Escherichia coli

Aaronson, S.: J. Bacteriol. 77: 548 (1959)
Amann, C.A. & R.S. Safferman: Antibiot. Chemother. (Wash. D.C.) 8: 1 (1958)
Anderson, L.E. et al.: Antibiot. Chemother. (Wash. D.C.) 6: 100 (1956)
Bartz, Q.R. et al.: Nature (Lond.) 173: 772 (1954)
Bennett, L.L. et al.: Arch. Biochem. Biophys. 64: 423 (1956)
Brock, T.D. & M.L. Brock: J. Bacteriol. 81: 212 (1961)
Buchenal, J.H.: Cancer Treat. Rep. 63: 1031 (1979)
Catane, R. et al.: Cancer Treat. Rep. 63: 1033 (1979)
Coffey, G.L. et al.: Antibiot. Chemother. (Wash. D.C.) 4: 775 (1954)
Divekar, A.Y.: Fed. Proc. 36: 281 (1977)
Duvall, L.R.: Cancer Chemother. Rep. 7: 65 (1960)
Ehrlich, J. et al.: Nature (Lond.) 173: 72 (1954)
Ehrlich, J.: Fed. Proc. 13: 444 (1954)
Ellison, R.R. et al.: Cancer Res. 7: 801 (1954)
Fusari, S.A. et al.: J. Am. Chem. Soc. 76: 2878 (1954)
Fusari, S.A. et al.: J. Am. Chem. Soc. 76: 2881 (1954)
Holland, J.F. et al.: Clin. Pharmacol. Ther. 2: 22 (1967)
Lilja, H.S. et al.: Proc. Am. Assoc. Cancer Res. and ASCO 19: 174 (1978)
Livingston, R.B. et al.: Adv. Pharmacol. Chemother. 8: 57 (1970)
Maxwell, R.E. & V.S. Nickel: Science (Wash. D.C.) 120: 270 (1954)
Meister, A.: PAABS Revista 4: 273 (1975)
Moore, J.A. et al.: J. Am. Chem. Soc. 76: 2884 (1954)
Nakamura, M.: Nature (Lond.) 178: 1119 (1956)
Nitta, K. et al.: J. Antibiot. (Tokyo) Ser. A 8: 120 (1955)
Norman, A.G.: Science (Wash. D.C.) 121: 213 (1955)
Pittillo, R.F. & D.E. Hunt: in: Antibiotics (D. Gottlieb, P.D. Shaw, eds.), Vol. I, p. 481, Springer, Berlin, New York (1967)
Sassenrath, E.N.: Ann. N.Y. Acad. Sci. 76: 601 (1958)
Skipper, H.E.: Fed. Proc. 13: 298 (1954)
Stock, C.C. et al.: Nature (Lond.) 173: 71 (1954)
Stock, C.C. & G.S. Tarnowski: Proc. Am. Assoc. Cancer Res. and ASCO 18: 240 (1977)
Sugiura, K.: Ann. N.Y. Acad. Sci. 76: 575 (1958)
Sugiura, K. & C.C. Stock: Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 88: 127 (1955)
Tate, S.S. & A. Meister: Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 74: 931 (1977)
Tomisek, A.J. et al.: Arch. Biochem. Biophys. 64: 437 (1956)

6-Diazo-5-oxo-L-norleucin — DON

a) Streptomyces ambofaciens, Streptomyces spec. / Synthese

b) Tumorzellen, Bakterien (schwach) Hefen (schwach)

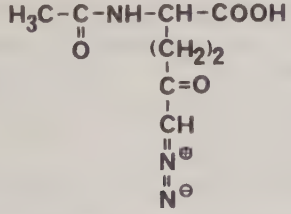


c) verschiedene AS in verschiedenen Organismen

d) Hemmung der de-novo-Purinbiosynthese, Hemmung der Phosphat-abhängigen Glutaminase, Hemmung der Glutaminamidotransferase und der γ-Glutamyltranspeptidase

Brockman, R.W.: Adv. Cancer Res. 7: 129 (1963)
Buchenal, J.H.: Cancer Treat. Rep. 63: 1031 (1979)
Catane, R. et al.: Cancer Treat. Rep. 63: 1033 (1979)
Clark, D.A. et al.: Antibiot. Chemother. (Wash. D.C.) 7: 653 (1957)
Cooney, D.A. et al.: Biochem. Pharmacol. 25: 1859 (1976)
Dewold, H.A. & A.M. Moore: J. Am. Chem. Soc. 80: 3941 (1958)
Dion, H.W. et al.: J. Am. Chem. Soc. 78: 3075 (1956)
Duvall, L.R.: Cancer Chemother. Rep. 7: 65-86 (1960)
Duvall, L.R.: Cancer Chemother. Rep. 7: 86 (1960)
Ehrlich, J. et al.: Antibiot. Chemother. (Wash. D.C.) 6: 487 (1956)
Meister, A.: PAABS Revista 4: 273 (1975)
Moore, A.M. et al.: Offenlegungsschrift (Parke Davis & Co.): Japan 3,648 (20.4.1961)
Pittillo, R.F. & D.E. Hunt: in: Antibiotics (D. Gottlieb, P.D. Shaw, eds.), Vol. I, p. 481, Springer, Berlin, New York (1967)
Rao, K.V. et al.: Antibiot. Annu. 1959/1960: 943 (1960)
Shapiro, R.A. et al.: J. Biol. Chem. 254: 2835 (1979)
Tate, S.S. & A. Meister: Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 74: 931 (1977)

N^2-Acetyl-(6-diazo-5-oxo)-L-norleucin Duazomycin A, Diazomycin A, N-Acetyl-DON



a) Streptomyces ambofaciens

b) Bakterien, Hefen, Tumorzellen (Maus)

c) verschiedene AS in verschiedenen Organismen

d) -

e) Stamm produziert auch DON

Chas. Pfizer & Co.: Offenlegungsschrift Brit. 935,327 (28.8.63)
Rao, K.V.: Antimicr. Agents Chemother. 1961: 178 (1962)
Rao, K.V. et al.: Antibiot. Annu. 1959/1960: 943 (1960)

Struktur unbekannt

Duazomycin C, Diazomycin C

a) Streptomyces ambofaciens

b) Bakterien, Hefen, Tumorzellen

c) verschiedene AS in verschiedenen Organismen

d) -

e) Stamm produziert auch DON

Chas. Pfizer & Co.: Offenlegungsschrift Brit. 935,327 (28.8.63)
Rao, K.V. et al.: Antibiot. Annu. 1959/1960: 943 (1960)

K-52 A

Struktur unbekannt

a) Streptoverticillium roseoverticillatum subsp. albosporum

b) grampositive und gramnegative Bakterien, Pseudomonas aeruginosa

c) Asp-COOH, Asp-NH_2, Glu-COOH

d) -

e) saccharidähnliche Struktur erwartet, kein N enthaltend

Shibata, M. et al.: Agric. Biol. Chem. 40: 1587 (1976)

K-52 B

Struktur unbekannt

a) Streptoverticillium roseoverticillatum subsp. albosporum

b) Pseudomonas aeruginosa, Pseudomonas aureofaciens, Bacillus subtilis, Escherichia coli

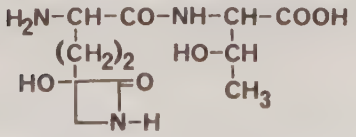
c) Asp-COOH, Asp-NH_2, Glu-COOH

d) -

e) saccharidähnliche Struktur erwartet, N vorhanden

Shibata, M. et al.: Agric. Biol. Chem. 41: 1407 (1977)

2-Amino-4-(3-hydroxy-2-oxo-3-azetidinyl)butyl-L-threonin



Wild fire toxin, Tabtoxin, Toxin

a) Pseudomonas tabaci, Pseudomonas spec.

b) Chlorella vulgaris, Tabakblätter

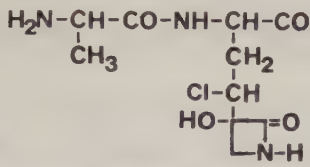
c) Met

d) Hemmung der Glutaminsynthetase

e)

Braun, A.C.: Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 36: 423 (1950)
Johnson, J. & H.F. Murwin: Wis. Agric. Exp. Stn. Res. Bull. 62: 1 (1925)
Sinden, S.L. & R.D. Durbin: Nature (Lond.) 219: 379 (1968)
Sinden, S.L. & R.D. Durbin: Phytopathology 60: 360 (1970)
Stewart, W.W.: Nature (Lond.) 229: 174 (1971)
Taylor, P.A. et al.: Biochim. Biophys. Acta 286: 107 (1972)
Wooley, D.W. et al.: J. Biol. Chem. 215: 485 (1955)

(S)-Alanyl-3-{α-(S)-chlor-3-(S)-hydroxy-2-oxo-3-azetidinylmethyl}-(S)-alanin



Ro 7-7962, X-372 A, 4632-114-A

a) Streptomyces spec., Streptomyces spec. 372 A (NRRL 8045)

b) grampositive und gramnegative Bakterien

c) -

d) Hemmung der Glutaminsynthetase

e) Transportstudien

Dorgerloh, M.: Dissertation, Universität Tübingen (1980)
Roche: Offenlegungsschrift U.S. 3,901,880 (26.8.1975)
Scannell, J.P. et al.: J. Antibiot. (Tokyo) 28: 1 (1975)

Struktur unbekannt

X-97

a) Streptomyces fradiae

b) Escherichia coli K-12, gramnegative Bakterien

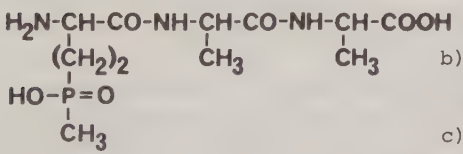
c) verschiedene Dipeptide

d) Hemmung der Glutaminsynthetase vermutet

e) Transportstudien; enthält Ala, Dipeptid vermutet

Dorgerloh, M.: Dissertation, Universität Tübingen (1980)
Möller, J.M.: Dissertation, Universität Tübingen (1971)

2-Amino-4-methylphosphinobutyl-L-alanyl-L-alanin



Phosphinothricyl-alanyl-alanin, SF-1293

a) Streptomyces hygroscopicus SF 1293 (Ferm.-P. 996, ATCC 21705), Streptomyces viridochromogenes (Tü 494) / Synthese

b) Escherichia coli, Bacillus subtilis, Botrytis cinerea, Pseudomonas saccharophilia

c) -

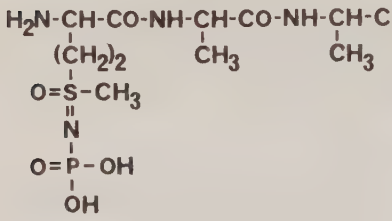
d) Hemmung der Glutaminsynthetase nach Aufnahme via opt und Hydrolyse des Tripeptids zu Phosphinothricin

e) Synthese von (D,L)-Phosphinothricin; Transportstudien, Stamm produziert auch SF 1293 B

Bayer, E. et al.: Helv. Chim. Acta 55: 224 (1972)
Diddens, H. et al.: Eur. J. Biochem. 66: 11 (1976)
Ezaki, N. et al.: Sci. Rep. Meiji Seika Kaisha 13: 60 (1973)
Gruszecka, E. et al.: Pol. J. Chem. 53: 937 (1979)
Gugel, K.-H.: Dissertation, Universität Tübingen (1971)
Inouye, S. et al.: Chem. Pharm. Bull. (Tokyo) 23: 2669 (1975)

Kondo, Y. et al.: Sci. Rep. Meiji Seika Kaisha 13: 34 (1973)
Meiji Seika: Offenlegungsschrift Japan 76-639 (9.1.1976)
Niida, T. et al.: Offenlegungsschrift DAS 2'236'599 (1974)
Ogawa, Y. et al.: Sci. Rep. Meiji Seika Kaisha 13: 42 (1973)
Ogawa, Y. et al.: Sci. Rep. Meiji Seika Kaisha 13: 49 (1973)
Ogawa, Y. et al.: Sci. Rep. Meiji Seika Kaisha 13: 54 (1973)

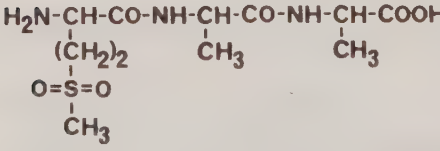
L-(N^5-Phosphono)-methionin-(S)-sulfoximinyl-L-alanyl-L-alanin



a) Streptomyces spec. X-13152
b) Serratia spec., Bacillus subtilis, Escherichia coli K-12
c) -
d) Hemmung der Glutaminsynthetase bei Escherichia coli
e) Transportstudien

Diddens, H. et al.: Eur. J. Biochem. 66: 11 (1976)
Pruess, D.L. et al.: J. Antibiot. (Tokyo) 26: 261 (1973)
Scannell, J.P. et al.: in: Chemistry and Biology of Peptides (Meienhofer, J., ed.), pp. 415, Ann Arbor Sci. Publ., Ann Arbor, Michigan (1972)

Methionin-S-dioxidyl-L-alanyl-L-alanin

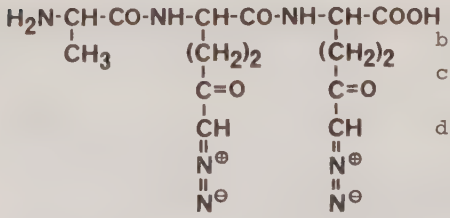


a) Synthese
b) Escherichia coli K-12
c) verschiedene Tripeptide
d) Hemmung der Glutaminsynthetase bei Escherichia coli
e) Transportstudien

Diddens, H. et al.: Eur. J. Biochem. 66: 11 (1976)

L-Alanyl-(6-diazo-5-oxo)-L-norleucyl-(6-diazo-5-oxo)-L-L-norleucin

Alazopeptin, Ala-DON-DON



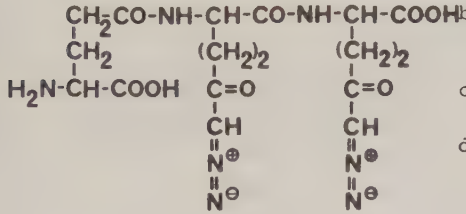
a) Streptomyces griseoplanus, Streptomyces candidus var. azaticus
b) Bakterien, Hefen, Tumorzellen
c) verschiedene Aminosäuren in verschiedenen Organismen
d) Nach Hydrolyse zu Ala und DON Hemmung wie bei DON beschrieben

Backus, E.J. et al.: Antibiot. Chemother. (Wash. D.C.) 7: 532 (1957)
DeVoe, S.E. et al.: Antibiot. Annu. 1956/1957: 730 (1957)

Hata, T. et al.: J. Antibiot. (Tokyo) 26: 181 (1973)
Sugiura, K.: Ann. N.Y. Acad. Sci. 76: 575 (1958)
Thiersch, J.B.: Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 97: 888 (1958)

5-L-Glutamyl-(6-diazo-5-oxo)-L-norleucyl-(6-diazo-5-oxo)-L-norleucin

Azotomycin, Duazomycin B, Diazomycin B



a) Streptomyces ambofaciens

b) Bakterien (schwach), Hefen (schwach), Tumorzellen, Lymphozyten

c) verschiedene AS in verschiedenen Organismen

d) nach enzymatischer Hydrolyse zu 2 Mol DON Hemmung wie bei DON beschrieben

e) aktiver als Duazomycin A und C

Brockman, R.W. et al.: Antimicr. Agents Chemother. 1969: 56 (1969)
Catane, R. et al.: Cancer Treat. Rep. 63: 1033 (1979)
Chas. Pfizer & Co.: Offenlegungsschrift Brit. 935,327 (28.8.63)
Hersh, E.M. & B.W. Brown: Cancer Res. 31: 834 (1971)
Osieka, R. et al.: Cancer (Phila.) 40: 2640 (1977)
Pittillo, R.F. et al.: Cancer Chemother. Rep. 55: 47 (1971)
Poulsen, C.O. & G.K. Jacobsen: Cancer Res. 35: 2790 (1975)
Rao, K.V.: Antimicr. Agents Chemother. 1962: 179 (1962)
Rao, K.V. et al.: Antibiot. Annu. 1959/1960: 943 (1960)

X-1606

a) Streptomyces violaceoniger (Tü 1606)

Struktur unbekannt

b) Bakterien, Pilze

c) verschiedene Tripeptide

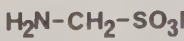
d) Hemmung der Glutaminsynthetase vermutet

e) Transportstudien; enthält kein Ala, Tripeptid vermutet

Dorgerloh, M.: Dissertation, Universität Tübingen (1980)

7.10. Glycin

α-Aminomethansulfonsäure



a) Synthese

b) Bakterien, Vaccinia virus, Bakteriophagen

c) -

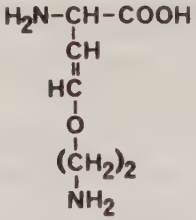
d) -

e) -

Dittmer, K.: Ann. N.Y. Acad. Sci. 52: 1274 (1950)
McIlwain, H.: Br. J. Exp. Pathol. 22: 148 (1941)
Spizizen, J.: J. Infect. Dis. 73: 212 (1943)
Thompson, R.L.: J. Immunol. 55: 345 (1947)

7.11. Histidin

L-2-Amino-4-(2-aminoäthoxy)-trans-3-butensäure



a) Streptomyces spec., Streptomyces X-11085 / Synthese

b) Streptomyces cellulosae, Bacillus subtilis

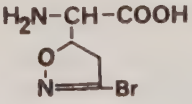
c) Cys-SH, Arg, Lys, Orn

d) -

e) AS mit einer Enol-Äther-Gruppierung

Hoffmann-La Roche: Offenlegungsschrift U.S. 3,751,459 (7.8.73)
Hoffmann-La Roche: Offenlegungsschrift Japan Kokai 74-19,987 (3.3.1974)
Lenzen, C. & L. Delcambe: Inf. Bull. I.C.I.A. 13: 146 (1976)
Pruess, D.L. et al.: J. Antibiot. (Tokyo) 27: 229 (1974)
Scannell, J.P. et al.: J. Antibiot. (Tokyo) 29: 38 (1976)

α-S,5S-α-Amino-3-brom-4,5-dihydro-5-isoxazol-essigsäure



a) Synthese

b) Bacillus subtilis, Escherichia coli, Tumorzellen

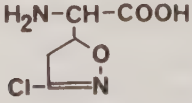
c) -

d) -

e) -

Kelly, R.C. et al.: J. Am. Chem. Soc. 101: 1054 (1979)

α-S,5S-α-Amino-3-chlor-4,5-dihydro-5-isoxazol-essigsäure U-42126, AT-125, NSC-163501



a) Streptomyces sviceus NRRL 5439 (Ferm.-P. 1706) / Synthese

b) Bacillus subtilis, Escherichia coli, Pilze, Tumorzellen, Leukämie in der Maus

c) -

d) -

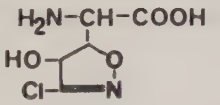
e) Stamm produziert auch U-43795, Derivate synthetisiert

Baldwin, J.E. et al.: J. Chem. Soc. Chem. Commun. 1976: 795 (1976)

Hanka, L.J. & A. Dietz: Antimicr. Agents Chemother. 3: 425 (1973)
Hanka, L.J. et al.: Antimicr. Agents Chemother. 7: 807 (1975)
Hanka, L.J. et al.: Cancer Chemother. Rep. 57: 141 (1973)
Hauchers, G.: Proc. Am. Assoc. Cancer Res. and ASCO: 19: 40 (1978)
Jayaram, H.N. et al.: Cancer Chemother. Rep. 59: 481 (1975)
Kelly, R.C. et al.: J. Am. Chem. Soc. 101: 1054 (1979)
Martin, D.G. et al.: J. Antibiot. (Tokyo) 28: 91 (1975)
Martin, D.G. et al.: Tetrahedron Lett. 27: 2549 (1973)
Upjohn: Offenlegungsschrift Japan Kokai 73-99,391 (12.3.1973)

α-S,4S,5R-α-Amino-3-chlor-4-hydroxy-4,5-dihydro-5-isoxazol-essigsäure

U-43795, NSC-163501



a) Streptomyces sviceus

b) Bacillus subtilis (schwach), Tumorzellen, Lymphoide Leukämie

c) Glu-NH_2

d) -

e) Stamm produziert auch U-42126

Hanka, L.J. & A. Dietz: Antimicr. Agents Chemother. 3: 425 (1973)
Hanka, L.J. et al.: Antimicr. Agents Chemother. 7: 807 (1975)
Holcenberg, J.S. et al.: Proc. Am. Assoc. Cancer Res. and ASCO 17: 168 (1976)
Martin, D.G. et al.: J. Antibiot. (Tokyo) 28: 91 (1975)
Upjohn: Offenlegungsschrift U.S. 3,944,562 (16.3.1976)

U-43120, NSC-163500

Struktur unbekannt

a) Streptomyces paulus UC 5231 (NRRL 8115)

b) grampositive und gramnegative (schwächer) Bakterien, Leukämie

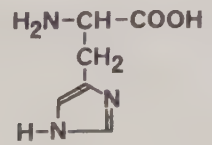
c) -

d) -

e) Stamm produziert auch U-43795, Isothiocyanatgruppe anhand IR-Spektrum diskutiert

Hanka, L.J. & A. Dietz: J. Antibiot. (Tokyo) 29: 611 (1976)
Upjohn: Offenlegungsschrift U.S. 3,988,441 (26.10.1976)
Wiley, P.F.: J. Antibiot. (Tokyo) 29: 587 (1976)

D-Histidin



a) Synthese

b) Histidase

c) -

d) -

e) -

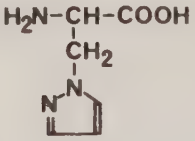
Edlbacher, S. et al.: Z. Physiol. Chem. 265: 61 (1940)

Imidazol

a) Synthese
b) Bakterien
c) -
d) -
e) -

Edlbacher, S. et al.: Z. Physiol. Chem. 265: 61 (1940)

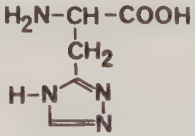
ß-Pyrazolyl-1-alanin



a) Cucurbitaceae
b) Escherichia coli
c) -
d) -
e) Herstellung aus Pyrazol durch Biotransformation in Sämlingen möglich

Noe, F.F. & L. Fowden: Biochem. J. 77: 543 (1960)
Frisch, D.M. & L. Fowden: unpublizierte Daten

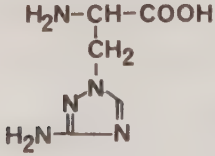
1,2,4-Triazolyl-3-alanin



a) Synthese
b) Escherichia coli, Salmonella
c) -
d) falsche Endprodukthemmung der His-Biosynthese
e) -

Jones, R.G. & C. Ainsworth: J. Am. Chem. Soc. 77: 1538 (1955)
Levin, A.P. & P.E. Hartman: J. Bacteriol. 86: 820 (1963)
Moyed, H.S.: J. Biol. Chem. 236: 2261 (1961)

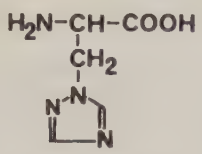
ß-3-Amino-1,2,4-triazolyl-1-alanin



a) aus Tomatenpflanzen (Biotransformation!)
b) Escherichia coli
c) -
d) Einbau ins Protein
e) kein reines Naturprodukt, sondern nach Behandlung mit 3-Amino-1,2,4-triazol (Amitrol) entstanden

Williams, A.K. et al.: Biochem. Biophys. Res. Commun. 18: 250 (1965)

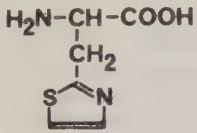
ß-1,2,4-Triazolyl-1-alanin



a) aus Sämlingen (Biotransformation!)
b) Escherichia coli
c) -
d) -
e) kein reines Naturprodukt, sondern nach Behandlung mit 1,2,4-Triazol entstanden

Frisch, D.M. & L. Fowden: unpublizierte Daten

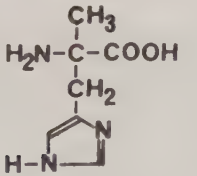
2-Thiazolylalanin



a) Synthese
b) Escherichia coli
c) -
d) falsche Endprodukthemmung der His-Biosynthese
e) -

Moyed, H.S.: J. Biol. Chem. 236: 2261 (1961)

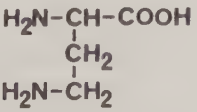
α-Methylhistidin



a) Synthese
b) Salmonella typhimurium
c) -
d) falsche Endprodukthemmung der His-Biosynthese
e) -

Ames, B.N. et al.: J. Biol. Chem. 236: 2019 (1961)
Martin, R.G.: J. Biol. Chem. 238: 257 (1963)

α,γ-Diaminobuttersäure

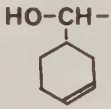


a) Synthese
b) Escherichia coli W
c) -
d) falsche Endprodukthemmung der His-Biosynthese
e) -

Moyed, H.S.: J. Biol. Chem. 236: 2261 (1961)

7.12. Isoleucin

3-Cyclohexenyl-1-hydroxyessigsäure



a) Streptomyces antibioticus ATCC 14891, Streptomyces antibioticus FD-13219 ATCC 14890

b) grampositive und gramnegative (schwächer) Bakterien

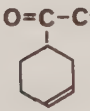
c) -

d) -

e) -

Pfizer: Offenlegungsschrift Japan 67-8,919 (26.4.1967)

3-Cyclohexenyl-1-glyoxylsäure — Ketomycin



a) Streptomyces antibioticus (Tü 99), Streptomyces tendae (Tü 901), Streptomyces spec. / Synthese

b) Bacillus subtilis, Escherichia coli, Bakterien,

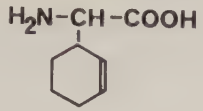
c) Homoserin, Thr, Val, Leu, α-Ketosäuren

d) nach enzymatischer Umwandlung (Dehydrogenase) in 3-Cyclohexenylglycin Hemmung der Threonindesaminase, Hemmung einer Transaminase (Dehydrogenase)

e) Ketomycin-Resistenz beruht auf einer defekten Transaminierung (Escherichia coli)

Celmer, W.D.: Offenlegungsschrift Belgian Patent 644,682 (1964)
Celmer, W.D.: Chem. Abstr. 63: 9836a (1965)
Dorgerloh, M.: Dissertation, Universität Tübingen (1980)
Jackson, J.H. & H.E. Umbarger: Antimicr. Agents Chemother. 3: 510 (1973)
Jackson, J.H. et al.: J. Bacteriol. 120: 1380 (1974)
Keller-Schierlein, W. et al.: Arch. Microbiol. 67: 339 (1969)
Krüpe, H. & K. Poralla: Arch. Microbiol. 85: 253 (1972)
Nass, G. et al.: Naturwissenschaften 58: 603 (1971)
Pfizer: Offenlegungsschrift Japan 67-8,919 (26.4.1967)
Zähner, H. & K. Poralla: Proc. Int. Congr. Chemother., 6th., 2: 1111 (1969)

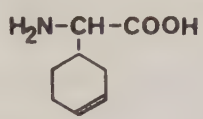
2-Cyclohexenylglycin



a) Synthese
b) Escherichia coli
c) -
d) -
e) schwächer wirksam als 3-Cyclohexenylglycin

Edelson, J. et al.: J. Am. Chem. Soc. 80: 2698 (1958)

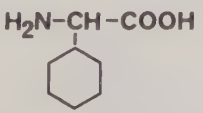
3-Cyclohexenylglycin



a) Streptomyces tendae (Tü 901), Streptomyces spec., Streptomyces antibioticus ATCC 11891, Streptomyces antibioticus FD-13219 (ATCC 14890) / Synthese
b) Escherichia coli, Bacillus subtilis, Bakterien
c) Homoserin, Thr, Val, Leu
d) Hemmung der Threonindesaminase
e) Tü 901 produziert auch Nikkomycine; Naturprodukt hat 1-R-α(S)-Chiralität

Celmer, W.D.: Offenlegungsschrift Belgian Patent 644,682 (1964)
Celmer, W.D.: Chem. Abstr. 63: 9836a (1965)
Dorgerloh, M.: Dissertation, Universität Tübingen (1980)
Edelson, J. et al.: J. Am. Chem. Soc. 80: 2698 (1958)
Jackson, J.H. & H.E. Umbarger: Antimicr. Agents Chemother. 3: 510 (1973)
Jackson, J.H. et al.: J. Bacteriol. 120: 1380 (1974)
Keller-Schierlein, W. et al.: Arch. Microbiol. 67: 339 (1969)
König, W.A. et al.: Z. Naturforsch. 30: 626 (1975)
Krüpe, H. & K. Poralla: Arch. Microbiol. 85: 253 (1972)
Nass, G. et al.: Naturwissenschaften 58: 603 (1971)
Pfizer: Offenlegungsschrift Japan 67-8,919 (26.4.1967)
Poralla, K.: Zentralbl. Bakteriol. Parasitenkd. Infektionskr. Hyg. Abt. I Orig. 212: 272 (1970)
Zähner, H. & K. Poralla: Proc. Int. Congr. Chemother., 6th., 2: 1111 (1969)

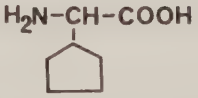
Cyclohexylglycin



a) Synthese
b) Bacillus subtilis
c) Homoserin, Thr, Val, Leu
d) Hemmung der Threonindesaminase
e) Transportstudien

Dorgerloh, M.: Dissertation, Universität Tübingen (1980)

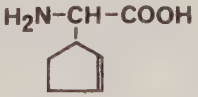
Cyclopentylglycin



a) Synthese
b) Escherichia coli
c) -
d) -
e) -

Edelson, J. et al.: J. Am. Chem. Soc. 80: 2698 (1958)
Harding, W.M. & W. Shive: J. Biol. Chem. 206: 401 (1954)

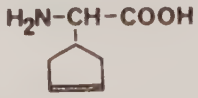
2-Cyclopentenylglycin



a) Synthese
b) Escherichia coli
c) Val
d) -
e) Ile nur in Verbindung mit Val antagonisierend

Dennis, R.L. et al.: J. Am. Chem. Soc. 77: 2362 (1955)
Edelson, J. et al.: J. Am. Chem. Soc. 80: 2698 (1958)

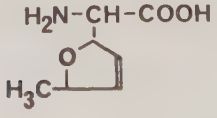
3-Cyclopentenylglycin



a) Synthese
b) Escherichia coli
c) -
d) -
e) -

Edelson, J. et al.: J. Am. Chem. Soc. 80: 2698 (1958)

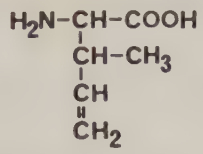
L-2-Amino-(2,5-dihydro-5-methyl)-furyl-essigsäure — Furanomycin, Threomycin



a) Streptomyces flaveolus, Streptomyces spec. L 803 (ATCC 15795)
b) Escherichia coli, Mycobacterium H 37 Rv, gramnegative Bakterien
c) Val, Leu
d) Hemmung der Ile-t-RNA-synthetase
e) Stereochemie noch unklar

Katagiri, K. et al.: J. Med. Chem. 10: 1149 (1967)
Kimura, Y. et al.: 144th Meet. Jap. Antib. Res. Assoc. (26.3.65)
Masamune, T. & M. Ono: Chem. Letters 1975: 625 (1975)
Tanaka, K. et al.: Biochim. Biophys. Acta 195: 244 (1969)

D,L-ω-Dehydroisoleucin



a) Synthese

b) Escherichia coli 9723, Lactobacillus arabinosus, Streptococcus faecalis

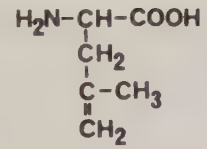
c) Val

d) -

e) D,L-ω-Dehydroalloisoleucin ist auch biologisch aktiv

Parker, E.D. et al.: J. Biol. Chem. 236: 3267 (1961)

Methallylglycin



a) Synthese

b) Escherichia coli, Saccharomyces cerevisiae

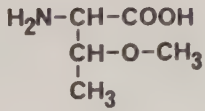
c) Cys-SH, Leu, Val

d) -

e) -

Dittmer, K.: Ann. N.Y. Acad. Sci. 52: 1274 (1950)
Dittmer, K. et al.: J. Am. Chem. Soc. 70: 2499 (1948)

O-Methylthreonin



a) Synthese

b) Escherichia coli C 4, Tumorzellen, höhere Pflanzen (Phaseolus vulgaris und Triticum compactum)

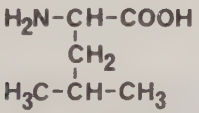
c) Thr + Met (Escherichia coli C 4)

d) Hemmung des Isoleucineinbaus ins Zellprotein

e) O-Methylallothreonin ist biologisch inaktiv

Gray, R.A. & D. Hendlin: Plant Physiol. (Bethesda) 37: 223 (1962)
Rabinovitz, M. et al.: J. Am. Chem. Soc. 77: 3109 (1955)

Leucin



a) Synthese

b) Lactobacillus arabinosus, Leuconostoc mesenteroides P-60, Ratten

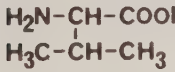
c) Val

d) Hemmung als eine regulatorische Konsequenz zwischen den verwandten AS Ile, Leu und Val

e) -

Brickson, W.L. et al.: J. Biol. Chem. 176: 517 (1948)
Doudoroff, M.: Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 53: 73 (1943)
Gladstone, G.P.: Br. J. Exp. Pathol. 20: 189 (1939)
Harper, A.E. et al.: Arch. Biochem. Biophys. 51: 523 (1954)

Valin



a) Streptomyces griseus (Tü 6) / Synthese

b) Escherichia coli K-12

c) Homoserin, Thr, Met, Leu

d) Hemmung als eine regulatorische Konsequenz zwischen den verwandten AS Val, Ile und Leu

e) Stamm produziert auch Albomycin; Bildung von Val unter Sulfatreduktion im Medium; Val-haltige Peptide nach Aufnahme via opt bzw. dpt und Hydrolyse ebenso toxisch

Brickson, W.L. et al.: J. Biol. Chem. 176: 517 (1948)
DeFelice, M. et al.: Microbiol. Rev. 43: 42 (1979)
DeFelice, M. et al.: Mol. Gen. Genet. 156: 1 (1977)
Gladstone, G.P.: Br. J. Exp. Pathol. 20: 189 (1939)
Payne, J.W. & C. Gilvarg: Adv. Enzymol. Relat. Areas Mol. Biol. 35: 187 (1971)

KT-151

Struktur unbekannt

a) Streptomyces luteogriseus KT-151

b) grampositive und gramnegative Bakterien

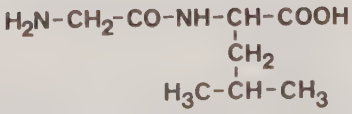
c) Val, Leu, Thr

d) -

e) vermutlich Analogon zu L-2-Amino-3-dimethylaminopropionsäure ($C_5H_{12}N_2O_2$)

Shibata, M. et al.: Agric. Biol. Chem. 41: 1767 (1977)

L-Glycyl-L-leucin



a) Synthese

b) Escherichia coli K-12

c) Thr

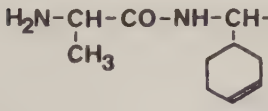
d) Hemmung der Threonindesaminase nach Aufnahme und Hydrolyse des Dipeptids

e) andere Gly bzw. Leu enthalten-

de Peptide sind biologisch inaktiv

Meisler, N. & S. Simmonds: J. Gen. Microbiol. 31: 109 (1963)
Simmonds, S. et al.: J. Biol. Chem. 188: 251 (1951)
Simmonds, S. et al.: J. Biol. Chem. 170: 483 (1947)
Simmonds, S.: Biochemistry 9: 1 (1970)
VonderHaar, R.A. & H.E. Umbarger: J. Bacteriol. 112: 142 (1972)
Wasmuth, J.J. & H.E. Umbarger: J. Bacteriol. 117: 29 (1974)

Alanyl-(D,L)-cyclohexenylglycin



a) Synthese

b) Bacillus subtilis, Escherichia coli K-12, Pilze (schwach)

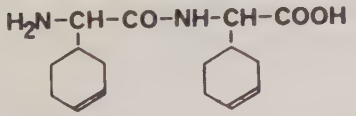
c) Thr, Leu, Homoserin, Val, verschiedene Dipeptide

d) Hemmung der Threonindesaminase

e) Transportstudien

Dorgerloh, M.: Dissertation, Universität Tübingen (1980)

Di-(D,L)-3-cyclohexenylglycin



a) Synthese

b) Escherichia coli K-12, Bacillus subtilis, Pilze (schwach)

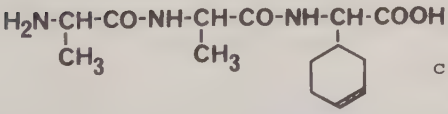
c) Thr, Leu, Homoserin, Val, verschiedene Dipeptide

d) Hemmung der Threonindesaminase

e) Transportstudien

Dorgerloh, M.: Dissertation, Universität Tübingen (1980)

Alanyl-alanyl-3-cyclohexenylglycin



a) Synthese

b) Bacillus subtilis ATCC 6051, Escherichia coli K-12, gramnegative und grampositive Bakterien

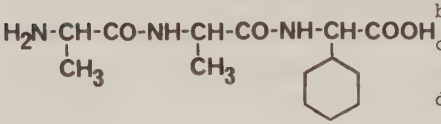
c) Leu, Thr, Val, Homoserin, verschiedene Oligopeptide

d) Hemmung der Threonindesaminase nach Aufnahme via opt und Hydrolyse zu 3-Cyclohexenylglycin

e) Transportstudien; Alanyl-alanyl-(D,L)-3-cyclohexenylglycin ebenfalls synthetisiert

Dorgerloh, M.: Dissertation, Universität Tübingen (1980)

Alanyl-alanyl-(D,L)-cyclohexylglycin



a) Synthese

b) Bacillus subtilis ATCC 6051

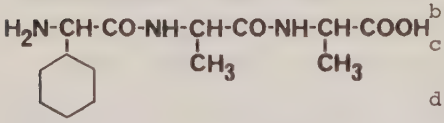
c) Leu, Thr, Val, verschiedene Oligopeptide

d) Hemmung der Threonindesaminase nach Aufnahme via opt und Hydrolyse zu Cyclohexylglycin

e) Transportstudien

Dorgerloh, M.: Dissertation, Universität Tübingen (1980)

(D,L)-Cyclohexylglycyl-alanyl-alanin



a) Synthese

b) Bacillus subtilis ATCC 6051

c) Leu, Thr, Val, verschiedene Oligopeptide

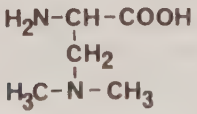
d) Hemmung der Threonindesaminase nach Aufnahme via opt und Hydrolyse zu Cyclohexylglycin

e) Transportstudien

Dorgerloh, M.: Dissertation, Universität Tübingen (1980)

7.13. Leucin

L-2-Amino-3-dimethylaminopropionsäure L-4-Azaleucin



a) Streptomyces neocaliberis var. neocaliberis NRRL 3189 / Synthese

b) Escherichia coli, Salmonella typhimurium, Leuconostoc mesenteroides, Micrococcus luteus, Proteus rettgeri, Proteus mildenbergii

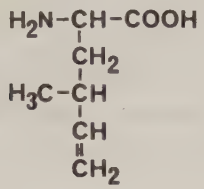
c) -

d) Hemmung der α-Isopropylmalatsynthetase und Einbau ins Protein

e) -

Argoudelis, A.D. et al.: Biochemistry 6: 165 (1967)
Smith, S.S. et al.: Arch. Biochem. Biophys. 102: 313 (1963)
Stieglitz, B. & J.M. Calvo: J. Bacteriol. 108: 95 (1971)
Upjohn: Offenlegungsschrift Japan 71-16,146 (1.5.1971)

L-2-Amino-4-methyl-5-hexensäure U-30116



a) Streptomyces spec., Boletus ixocomus nudi (New Guinea fungus)

b) Staphylococcus aureus, Bacillus subtilis, Micrococcus luteus

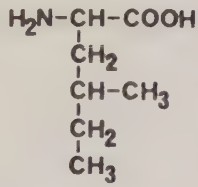
c) -

d) -

e) -

Gellert, E.: Phytochemistry (Oxf.) 12: 689 (1973)
Gellert, E. et al.: Phytochemistry (Oxf.) 17: 802 (1978)
Inf. Bull. I.C.I.A. 13: 142 (1976)
Kelly, R.B. et al.: Can. J. Chem. 47: 2504 (1969)
Rudzats, R. et al.: Biochem. Biophys. Res. Commun. 47: 290 (1972)

2-Amino-4-methylhexansäure



a) Synthese

b) Escherichia coli 9723, Leuconostoc dextranicum 8086

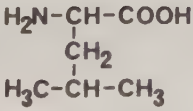
c) -

d) -

e) 2-Amino-5-methylhexansäure ist biologisch inaktiv

Edelson, J. et al.: J. Am. Chem. Soc. 81: 5150 (1959)

D-Leucin



a) Synthese

b) Escherichia coli, Brucella abortus, Staphylococcus aureus, Lactobacillus arabinosus

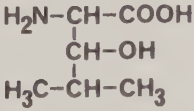
c) -

d) -

e) -

Fox, S.W. et al.: J. Biol. Chem. 155: 465 (1944)
Kobayashi, Y. et al.: J. Biol. Chem. 174: 391 (1945)
Yaw, E.K. & J.C. Kakawas: J. Bacteriol. 63: 263 (1952)

ß-Hydroxyleucin



a) Deutzia

b) Bakterien

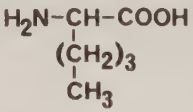
c) Ile

d) -

e) -

Buston, H.W. & J. Bishop: J. Biol. Chem. 215: 217 (1955)
Jadot, J. et al.: Biochim. Biophys. Acta 78: 500 (1963)
Otani, T.T.: Arch. Biochem. Biophys. 101: 131 (1963)

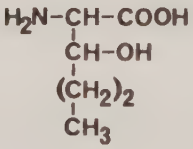
Norleucin



a) aus Casein / Synthese
b) Bakterien, tierisches Gewebe
c) Met
d) -
e) -

Black, A.L. & M. Kleiber: J. Am. Chem. Soc. 77: 6082 (1955)
Dittmer, K.: Ann. N.Y. Acad. Sci. 52: 1274 (1950)
Harding, W.M. & W. Shive: J. Biol. Chem. 174: 743 (1948)
McIlwain, H.: Br. J. Exp. Pathol. 22: 148 (1941)
Porter, J.R. & F.P. Meyers: Arch. Biochem. Biophys. 8: 169 (1945)
Rabinovitz, M. et al.: J. Biol. Chem. 210: 837 (1954)

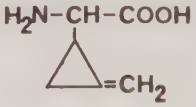
β-Hydroxy-norleucin



a) Synthese
b) Bakterien
c) Thr
d) -
e) -

Buston, H.W. & J. Bishop: J. Biol. Chem. 215: 217 (1955)
Buston, H.W. et al.: J. Biol. Chem. 204: 665 (1953)

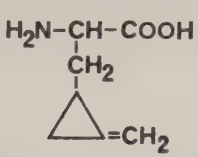
α-(Methylencyclopropyl)-glycin



a) Litchi-Samen aus Litchi chinensis (Sapindaceae)
b) Maus, Sämlinge (Phaseolus aureus)
c) -
d) zeigt hypoglykämische Aktivität in der Maus
e) homolog zu Hypoglycin A (hypoglykämisch aktiv)

Fowden, L.: J. Exp. Bot. 14: 387 (1963)
Gray, D.O. & L. Fowden: Biochem. J. 82: 385 (1962)
Peterson, P.J.: Ph. D. thesis, University of London (1964)

ß-(Methylencyclopropyl)-alanin Hypoglycin A



a) aus Früchten und Samen von Akee (Blighia sapida) (Sapindaceae)

b) Maus

c) -

d) zeigt hypoglykämische Aktivität, vermutlich Hemmung der ß-Oxydation von Fettsäuren in Tieren

e) -

Ellington, E.V. et al.: J. Chem. Soc. Sect. C Org. Chem. 1959: 80 (1959)
Hassall, C.H. & K. Reyle: Biochem. J. 60: 334 (1955)
Holt, L., v. & C.v. Holt: Biochem. Z. 331: 430 (1959)
McKerns, K.W. et al.: Biochem. Pharmacol. 3: 305 (1960)
Patrick, S.J.: Can. J. Biochem. 40: 1195 (1962)

1-Aminocyclopentylcarboxylsäure

a) Synthese

b) Tumorzellen

c) -

d) vermutlich Hemmung des Aminoacyl-t-RNA-Komplexes und Einbau ins Protein

e) -

Connors, T.A. et al.: Biochem. Pharmacol. 5: 108 (1960)
Martel, F. & L. Berlinguet: Can. J. Biochem. 37: 433 (1959)
Ross, R.B. et al.: Med. Pharm. Chem. 3: 1 (1961)

1-Amino-2-nitrocyclopentylcarboxylsäure

a) Aspergillus wentii / Synthese

b) Wurzeln der Erbse (Pea root)

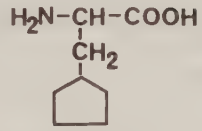
c) -

d) verschiedene Wirkungen, u.a. Hemmung der Chlorophyllbiosynthese

e) -

Brian, P.W. et al.: Nature (Lond.) 207: 998 (1965)
Burrows, B.F. & W.B. Turner: J. Chem. Soc. Sect. C Org. Chem. 1966: 255 (1966)

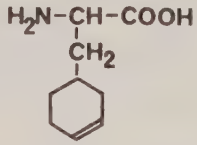
Cyclopentylalanin



a) Synthese
b) Lactobacillus arabinosus, Leuconostoc dextranicum 8086, Streptococcus lactis 8039
c) -
d) -
e) inaktiv gegen Escherichia coli

Pal, P.R. et al.: J. Am. Chem. Soc. 78: 5116 (1956)

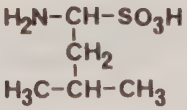
3-Cyclohexenyl-1-(D,L)-alanin



a) Synthese
b) Leuconostoc dextranicum 8086
c) -
d) -
e) -

Edelson, J. et al.: Arch. Biochem. Biophys. 80: 416 (1959)

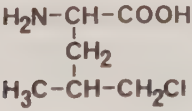
α-Aminoisopentansulfonsäure



a) Synthese
b) Bakterien, Maus-Tumor
c) -
d) -
e) -

Greenberg, D.M. & M.P. Schulman: Science (Wash. D.C.) 106: 271 (1947)
McIlwain, H.: Br. J. Exp. Pathol. 22: 148 (1941)
McIlwain, H.: J. Chem. Soc. (Lond.) 1941: 75 (1941)

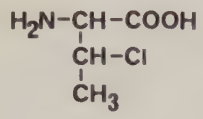
2-Amino-5-chlorisocapronsäure δ-Chlorleucin



a) Synthese
b) Neurospora crassa (33757-4637-A)
c) -
d) -
e) -

Ryan, F.J.: Arch. Biochem. Biophys. 36: 487 (1952)

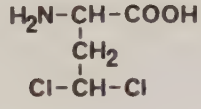
2-Amino-3-chlorbuttersäure



a) Synthese
b) Hefen, Bakterien
c) -
d) -
e) -

Dittmer, K.: Ann. N.Y. Acad. Sci. 52: 1274 (1950)
Kloosters, H.J. et al.: 113th Meeting, Am. Chem. Soc., Abstr. 11 C (1948)

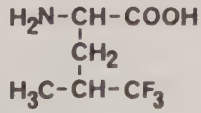
L-2-Amino-4,4-dichlorbuttersäure



a) Streptomyces armentosus var. armentosus NRRL 3176 / Synthese
b) Escherichia coli, Proteus mirabilis, Proteus vulgaris, Proteus rettgeri
c) Ile, Val
d) -
e) mehrere Halogenderivate synthetisiert

Argoudelis, A.D. et al.: Biochemistry 6: 165 (1967)
Upjohn: Offenlegungsschrift Japan 71-15,676 (27.4.1971)
Urabe, Y. et al.: Tetrahedron Lett. 12: 997 (1975)

5',5',5'-Trifluor-D,L-leucin Fluorleucin

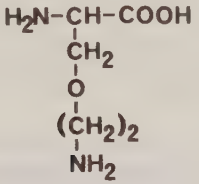


a) Synthese
b) Escherichia coli B, Salmonella typhimurium, Neurospora crassa
c) -
d) Hemmung der Ile-Val-Biosyntheseenzyme und Einbau ins Protein
e) -

Freundlich, M. & J.M. Trela: J. Bacteriol. 99: 101 (1969)
Freundlich, M. & J.M. Trela: J. Bacteriol. 99: 107 (1969)
Gross, S.R. & R.E. Webster: Cold Spring Harbor Symp. Quant. Biol. 28: 543 (1963)
Rennert, O.M. & H.S. Anker: Biochemistry 2: 471 (1963)

7.14. Lysin

L-2-Amino-3-(2-aminoäthoxy)-propionsäure



L-4-Oxalysin

a) Streptomyces chartreusis MA 2856, Streptomyces erythrochromogenes MA 2872 / Synthese

b) Escherichia coli, Micrococcus luteus, Leuconostoc dextranicum, verschiedene Lactobacillus spec., verschiedene Streptococcus spec.

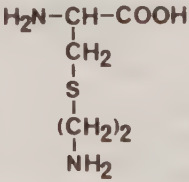
c) DAP, Lys-gly

d) -

e) -

McCord, T.J. et al.: J. Am. Chem. Soc. 79: 5693 (1957)
Staphley, E.O. et al.: Antimicr. Agents Chemother. 1967: 401 (1968)
Tesser, G.I. & G.H.L. Nefkens: Recl. Trav. Chim. Pays-Bas Belg. 78: 404 (1959)
Tesser, G.I. et al.: Recl. Trav. Chim. Pays-Bas Belg. 81: 713 (1962)

S-(ß-Aminoäthyl)-cystein



AEC

a) Synthese

b) Leuconostoc mesenteroides, Lactobacillus arabinosus

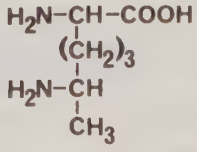
c) lysinhaltige Dipeptide

d) -

e) -

Shiota, T. et al.: Arch. Biochem. Biophys. 77: 372 (1958)

2,6-Diaminoheptansäure



a) Synthese

b) verschiedene Lactobacillus spec., Leuconostoc mesenteroides P-60, Streptococcus faecalis ATCC 9790

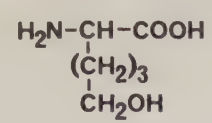
c) -

d) -

e) -

McLaren, A.D. & C.A. Knight: J. Am. Chem. Soc. 73: 4478 (1951)

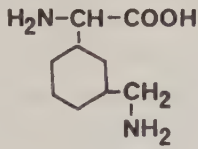
2-Amino-6-hydroxycapronsäure



a) Synthese
b) Ratte
c) -
d) -
e) -

Page, E. et al.: J. Biol. Chem. 171: 831 (1948)

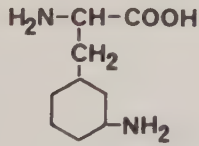
3-Aminomethylcyclohexylglycin



a) Synthese
b) Leuconostoc dextranicum 8086, Lactobacillus arabinosus
c) -
d) -
e) -

Davis, A.L. et al.: Arch. Biochem. Biophys. 87: 88 (1960)

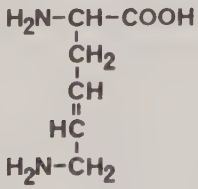
3-Aminocyclohexylalanin



a) Synthese
b) Escherichia coli, Lactobacillus arabinosus, Lactobacillus casei, Leuconostoc dextranicum
c) -
d) -
e) 4-Aminocyclohexylalanin ist biologisch inaktiv

Davis, A.A. et al.: Arch. Biochem. Biophys. 76: 139 (1958)

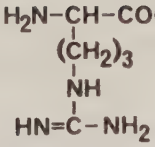
trans-4-Dehydrolysin



a) Synthese
b) Streptococcus lactis, Leuconostoc dextranicum 8086, Lactobacillus arabinosus
c) -
d) -
e) cis-Form ist nur sehr schwach biologisch aktiv

Davis, A.L. et al.: J. Am. Chem. Soc. 83: 2279 (1961)

Arginin

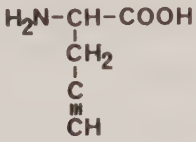


a) Synthese
b) Neurospora crassa
c) -
d) -
e) -

Daermann, A.H.: Arch. Biochem. Biophys. 5: 373 (1944)

7.15. Methionin

L-2-Amino-4-pentinsäure

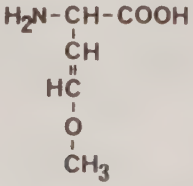


Propargylglycin

a) Streptomyces spec., Streptomyces spec. 8-4 (HLR 599 A), Streptoalloteichus hindustnus ATCC 31217 / Synthese
b) Bacillus subtilis, Saccharomyces cerevisiae
c) Leu, Val
d) -
e) -

Gershon, H. et al.: J. Am. Chem. Soc. 71: 3573 (1949)
Gershon, H. et al.: J. Am. Chem. Soc. 76: 3484 (1954)
Inf. Bull. I.C.I.A. 13: 148 (1976)
Scannell, J.P. et al.: J. Antibiot. (Tokyo) 24: 239 (1971)
Scannell, J.P. et al.: J. Antibiot. (Tokyo) 23: 619 (1970)
Schlögl, K.: Monatsh. Chem. 89: 377 (1958)
Shapira, J. & K. Dittmer: J. Bacteriol. 82: 640 (1961)

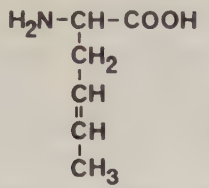
L-2-Amino-4-methoxy-(trans)-3-butensäure



a) Pseudomonas aeruginosa
b) Bacillus spec. 1283 B, Escherichia coli
c) Homocystein, Cystathionin, D-Ala, Ala, D-Glu-COOH, D-Asp-COOH, 2-Aminobuttersäure
d) Hemmung von Enzymen der Zellwandbiosynthese und möglicherweise Hemmung der Homoserin-O-succinyltransferase in Escherichia coli
e) AS mit Enol-Äther-Gruppierung

Sahm, U. et al.: J. Antibiot. (Tokyo) 26: 389 (1973)
Scannell, J.P. et al.: J. Antibiot. (Tokyo) 25: 122 (1972)
Scannell, J.P. et al.: J. Antibiot. (Tokyo) 24: 239 (1971)

2-Amino-4-hexensäure — Crotylglycin



a) Synthese

b) Escherichia coli, Saccharomyces cerevisiae

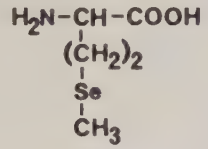
c) Cys-SH

d) -

e) nur die cis-Form ist biologisch aktiv

Dittmer, K. et al.: J. Am. Chem. Soc. 70: 2499 (1948)
Skinner, C.G. et al.: J. Am. Chem. Soc. 83: 2281 (1961)

L-Selenomethionin



a) Escherichia coli / Synthese

b) Chlorella vulgaris, Hefe, Escherichia coli

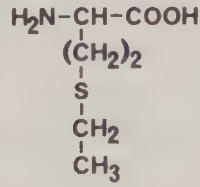
c) -

d) Hemmung der Met-Biosynthese und Einbau ins Protein

e) -

Blau, M.: Biochim. Biophys. Acta 49: 389 (1961)
Cowie, D.B. & G.N. Cohen: Biochim. Biophys. Acta 26: 252 (1957)
Fowden, L. et al.: Adv. Enzymol. Relat. Areas Mol. Biol. 29: 89 (1967)
Painter, E.P.: J. Am. Chem. Soc. 69: 232 (1947)
Schrift, A.: Am. J. Bot. 41: 345 (1954)
Schrift, A.: Fed. Proc., Fed. Am. Soc. Exp. Biol. 20: 695 (1961)
Tuve, T. & H.H. Williams: J. Biol. Chem. 236: 597 (1961)
Tuve, T. & H.H. Williams: J. Am. Chem. Soc. 79: 5830 (1957)

L-S-Äthylhomocystein — Ethionin



a) Escherichia coli, Bacillus megaterium, Pseudomonas aeruginosa, Aerobacter aerogenes / Synthese

b) Escherichia coli, Staphylococcus aureus, Saccharomyces cerevisiae, Neurospora crassa, Coprinus lagopus, Ratte, Amylase, Tumorzellen, Pankreasprotein

c) Adenin, ATP

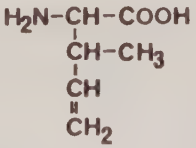
d) Hemmung der Met-Biosynthese und Einbau ins Protein anstatt Met

e) Peptidderivate von Ethionin sind biologisch aktiv

Dyer, H.M.: J. Biol. Chem. 124: 519 (1938)

Farber, E. et al.: J. Biol. Chem. 182: 91 (1950)
Fisher, J.F. & M.F. Mallette: J. Gen. Physiol. 45: 1 (1961)
Fowden, L. et al.: Adv. Enzymol. Relat. Areas Mol. Biol. 29: 89 (1967)
Gros, F. & F. Gros-Doulcet: Exp. Cell. Res. 14: 104 (1958)
Halvorson, H.O. & S. Spiegelman: J. Bacteriol. 64: 207 (1952)
Hansson, E. & T. Garzo: Biochim. Biophys. Acta 61: 121 (1962)
Harris, J.S. & H.I. Kohn: J. Pharmacol. Exp. Ther. 73: 383 (1941)
Keston, A.S. & S.B. Wortis: Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 61: 439 (1946)
Levine, M. & H. Tarver: J. Biol. Chem. 192: 835 (1951)
Levy, H.M. et al.: Cancer Res. 13: 507 (1953)
Parks, L.W.: J. Biol. Chem. 232: 169 (1958)
Porter, J.R. & F.P. Meyers: Arch. Biochem. Biophys. 8: 169 (1945)
Rabinovitz, M. et al.: J. Biol. Chem. 227: 217 (1957)
Roblin, R.O., jr. et al.: J. Am. Chem. Soc. 67: 290 (1945)
Simpson, M.V. et al.: J. Biol. Chem. 182: 81 (1950)
Shankman, S. et al.: Arch. Biochem. Biophys. 86: 204 (1960)
Shankman, S. et al.: Arch. Biochem. Biophys. 100: 431 (1963)
Stekol, J.A. & K.Weiss: J. Biol. Chem. 179: 1049 (1949)
Stekol, J.A. & K. Weiss: J. Biol. Chem. 185: 577 (1950)
Stekol, J.A. & K. Weiss: J. Biol. Chem. 185: 585 (1950)
Swendseid, M.E. et al.: J. Biol. Chem. 201: 803 (1953)
Villa-Trevino, S. et al.: J. Biol. Chem. 238: 1757 (1963)
Yoshida, A.: Biochim. Biophys. Acta 29: 213 (1958)
Yoshida, A. & M. Yamasaki: Biochim. Biophys. Acta 34: 158 (1959)

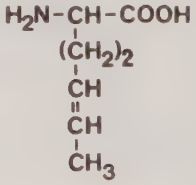
2-Amino-3-methyl-4-pentensäure



a) Synthese
b) Escherichia coli, Lactobacillus arabinosus (hier nur durch Ile antagonisiert)
c) Ile
d) -
e) -

Skinner, C.G. et al.: J. Am. Chem. Soc. 83: 2281 (1961)

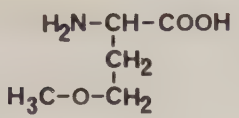
2-Amino-5-heptensäure — Crotylalanin



a) Synthese
b) Escherichia coli
c) -
d) -
e) -

Goering, H.L. et al.: J. Am. Chem. Soc. 70: 3314 (1948)

D,L-α-Amino-γ-methoxybuttersäure Methoxinin



a) Synthese

b) Escherichia coli, Staphylococcus aureus, Vaccina virus, Ratten

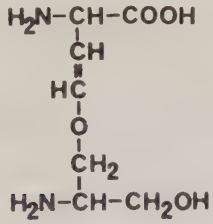
c) -

d) -

e) -

Roblin, R.O., jr. et al.: J. Am. Chem. Soc. 67: 290 (1945)
Shaffer, C.B. & F.H. Critchfield: J. Biol. Chem. 174: 489 (1948)
Thompson, R.L.: J. Immunol. 55: 345 (1947)

2-Amino-4-[2-amino-3-hydroxypropoxy]-trans-3-butensäure Rhizobitoxin



a) Rhizobium japonicum

b) Salmonella typhimurium

c) Homocystein

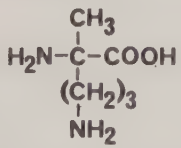
d) Hemmung der ß-Cystathionase

e) Hemmung der Äthylenbiosynthese in Äpfeln und Hirse durch Rhizobitoxin aufgehoben

Giovanelli, J. et al.: Biochim. Biophys. Acta 227: 671 (1971)
Owens, L.D. et al.: Biochim. Biophys. Acta 158: 219 (1968)
Owens, L.D. et al.: Plant Physiol. (Bethesda) 48: 1 (1971)
Owens, L.D. et al.: Chem. Commun. (J. Chem. Soc. Sect. D) 1972: 714 (1972)
Owens, L.D. & D.A. Wright: Plant Physiol. (Bethesda) 40: 927 (1965)

7.16. Ornithin

2-Methyl-L-ornithin



a) Synthese

b) Ornithindecarboxylase

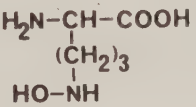
c) -

d) Hemmung der Ornithindecarboxylase

e) -

Abdel-Monem, M.M. et al.: J. Med. Chem. 17: 447 (1974)
Maehr, H. et al.: J. Antibiot. (Tokyo) 29: 221 (1976)
Maehr, H. & M. Leach: J. Antibiot. (Tokyo) 31: 165 (1978)

N^5-Hydroxy-D,L-ornithin



a) Synthese

b) Ornithindecarboxylase

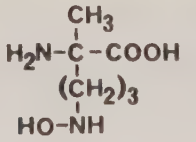
c) -

d) Hemmung der Ornithindecarboxylase

e) -

Maehr, H. & M. Leach: J. Org. Chem. 39: 1166 (1974)
Maehr, H. & M. Leach: J. Antibiot. (Tokyo) 31: 165 (1978)

N^5-Hydroxy-2-methyl-ornithin



a) Synthese

b) Ornithindecarboxylase

c) -

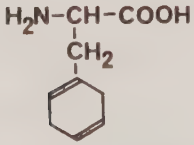
d) Hemmung der Ornithindecarboxylase

e) -

Abdel-Monem, M.M. et al.: J. Med. Chem. 17: 447 (1974)
Meahr, H. & M. Leach: J. Antibiot. (Tokyo) 31: 165 (1978)

7.17. Phenylalanin

L-3(2,5-Dihydrophenyl)-alanin



FN-1636, L-1,4-Cyclohexadienyl-1-alanin

a) verschiedene Streptomyces spec., Streptomyces parvulus (Tü 64), Streptomyces arenae (Tü 109) / Synthese

b) Escherichia coli, Bacillus subtilis, Pseudomonas aeruginosa, Saccharomyces cerevisiae, Leuconostoc dextranicum, Lactobacillus planarium

c) Tyr

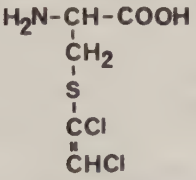
d) Hemmung der Try-Hydroxylase, Hemmung der 3-Desoxy-D-arabinoheptulosonat-7-Phosphat-Synthetase und der Prephenat-Dehydratase

e) Biosynthese aufgeklärt

Fickenscher, U.: Dissertation, Universität Tübingen (1970)
Fickenscher, U. & H. Zähner: Arch. Microbiol. 76: 28 (1971)
Fickenscher, U. et al.: Arch. Microbiol. 75: 346 (1971)
Fujisawa: Offenlegungsschrift Japan 70-26,712 (2.9.1970)
Genghof, D.S.: Can. J. Microbiol. 16: 545 (1970)

Nass, G. et al.: Naturwissenschaften 58: 603 (1971)
Okabayashi, K. et al.: J. Antibiot. (Tokyo) 30: 675 (1977)
Ressler, C.: J. Org. Chem. 37: 2933 (1972)
Scannell, J.P. et al.: J. Antibiot. (Tokyo) 23: 618 (1970)
Shimada, K. et al.: Planta Med., Abstr. Intern. Meeting, 16. - 20.5.78: 273 (1978)
Shoulders, B.A. et al.: J. Am. Chem. Soc. 90: 2992 (1968)
Snow, M.L. et al.: J. Org. Chem. 33: 1774 (1968)
Yamashita, T. et al.: J. Antibiot. (Tokyo) 23: 537 (1970)

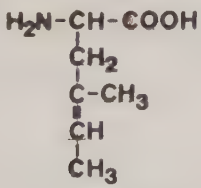
S-(1,2-Dichlorvinyl)-L-cystein



a) Synthese
b) Escherichia coli B
c) -
d) Einbau ins Protein anstelle Phe
e) -

Dickie, N. & M.O. Schultze: Arch. Biochem. Biophys. 100: 279 (1963)
Dickie, N. & M.O. Schultze: Arch. Biochem. Biophys. 100: 285 (1963)

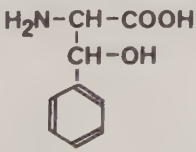
2-Amino-4-methyl-4-hexensäure



a) Aesculus california / Synthese
b) Leuconostoc dextranicum 8086
c) -
d) -
e) -

Anderson, J.W. & L. Fowden: Biochem. J. 119: 677 (1970)
Edelson, J. et al.: J. Am. Chem. Soc. 81: 5150 (1959)

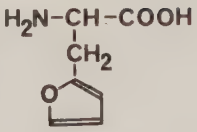
ß-Phenylserin



a) Synthese
b) Lactobacillus arabinosus, Lactobacillus brevis
c) -
d) -
e) weitere Isomere von Phenylserin getestet

Beerstecher, E., jr. & W. Shive: J. Biol. Chem. 164: 53 (1946)
Fox, S.W. & C.K. Warner: J. Biol. Chem. 210: 119 (1954)
Miller, D.A. & S. Simmonds: Science (Wash. D.C.) 126: 445 (1957)

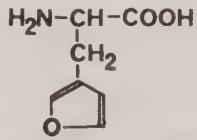
ß-2-Furylalanin



a) Synthese
b) Bakterien, Hefen
c) -
d) -
e) -

Clark, D.A. & K. Dittmer: J. Biol. Chem. 173: 313 (1948)
Dittmer, K.: Ann. N.Y. Acad. Sci. 52: 1274 (1950)
Herz, W. et al.: J. Biol. Chem. 171: 383 (1947)

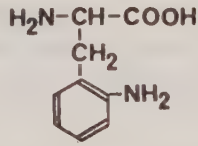
ß-3-Furylalanin



a) Synthese
b) Bakterien, Hefen
c) -
d) -
e) -

Dittmer, K.: Ann. N.Y. Acad. Sci. 52: 1274 (1950)
Primm, J.G. & K. Dittmer: unpublizierte Daten

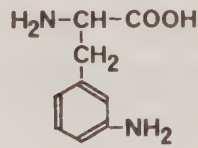
o-Aminophenylalanin



a) Synthese
b) Escherichia coli 9723
c) -
d) -
e) -

Davis, A.L. et al.: Arch. Biochem. Biophys. 102: 48 (1963)

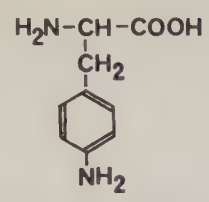
m-Aminophenylalanin



a) Synthese
b) Escherichia coli, Leuconostoc dextranicum, Lactobacillus casei, Lactobacillus arabinosus
c) -
d) -
e) -

Davis, A.L. et al.: Arch. Biochem. Biophys. 76: 139 (1958)

p-Aminophenylalanin



a) Synthese

b) Bakterien, Pilze, Escherichia coli, Leuconostoc dextranicum, Lactobacillus casei, Lactobacillus arabinosus

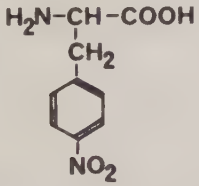
c) Tyr

d) -

e) -

Bergmann, E.D. et al.: Biochem. J. 54: 1 (1953)
Burckhalter, J.H. & V.C. Stephens: J. Am. Chem. Soc. 73: 56 (1951)
Davis, A.L. et al.: Arch. Biochem. Biophys. 76: 139 (1958)

p-Nitrophenylalanin



a) Synthese

b) Bakterien

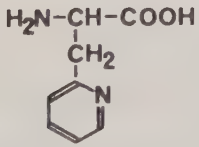
c) -

d) Hemmung der Phe-Biosynthese

e) -

Bergmann, E.D. et al.: Biochem. J. 54: 1 (1953)

D,L-ß-2-Pyridylalanin



a) Synthese

b) Escherichia coli, Escherichia coli W

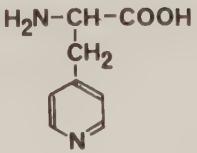
c) His (nur bei Escherichia coli W), Try

d) primär: Hemmung der Phe-Biosynthese
sekundär: falsche Endprodukt-Hemmung der His-Biosynthese

e) 9 weitere heterozyklisch ß-substituierte Alanine waren alle gegen Escherichia coli biologisch inaktiv

Lansford, E.M., jr. et al.: Arch. Biochem. Biophys. 38: 347 (1952)
Moyed, H.S.: J. Biol. Chem. 236: 2261 (1961)

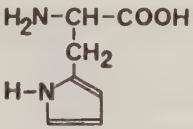
ß-4-Pyridylalanin



a) Synthese
b) Escherichia coli B, Streptococcus pyogenes Gruppe A
c) -
d) -
e) -

Elliott, D.F. et al.: J. Chem. Soc. (Lond.) 1948: 85 (1948)

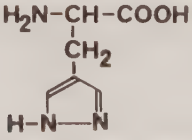
ß-2-Pyrrolylalanin



a) Synthese
b) Escherichia coli, Saccharomyces cerevisiae
c) -
d) -
e) -

Herz, W. et al.: J. Am. Chem. Soc. 70: 504 (1948)

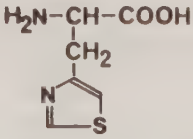
D,L-ß-4-Pyrazolylalanin



a) Synthese
b) Escherichia coli
c) Try
d) Hemmung der Phe-Biosynthese
e) -

Lansford, E.M., jr. & W. Shive: Arch. Biochem. Biophys. 38: 347 (1952)

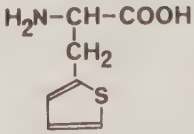
D,L-ß-4-Thiazolylalanin



a) Synthese
b) Escherichia coli
c) Try
d) Hemmung der Phe-Biosynthese
e) -

Lansford, E.M., jr. & W. Shive: Arch. Biochem. Biophys. 38: 347 (1952)

ß-2-Thienylalanin



a) Synthese
b) Escherichia coli ATCC 9723, Saccharomyces cerevisiae, Lactobacillus arabinosus, Streptococcus faecalis, Lactobacillus delbrueckii LD 5, Ratten, ß-Galaktosidase

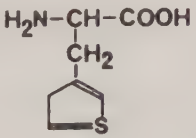
c) -

d) Hemmung der Phe-t-RNA-Synthetase in Escherichia coli, Hemmung der Phe-Hydroxylase

e) verschiedene Peptidderivate synthetisiert, jedoch ohne Wirkungssteigerung; Verbindung für Test auf Phenylketonurie verwendet

Beerstecher, E., jr. & W. Shive: J. Biol. Chem. 164: 53 (1946)
Dittmer, K. et al.: J. Biol. Chem. 166: 541 (1946)
Drea, W.F.: J. Bacteriol. 56: 257 (1948)
Dunn, F.W.: J. Biol. Chem. 233: 411 (1958)
Dunn, F.W. & K. Dittmer: J. Biol. Chem. 188: 263 (1951)
Dunn, F.W. et al.:J. Biol. Chem. 219: 809 (1956)
Ferger, M.F. & V. duVigneaud: J. Biol. Chem. 179: 61 (1949)
Ferger, M.F. & V. duVigneaud: J. Biol. Chem. 174: 241 (1948)
Garst, R.G. et al.: J. Biol. Chem. 180: 1013 (1949)
Guthrie, R. & A. Susie: J. Clin. Pathol. (Lond.) 24: 376 (1971)
Janeček, J. & H.V. Rickenberg: Biochim. Biophys. Acta 81: 108 (1964)
Kihara, H. & E.E. Snell: J. Biol. Chem. 212: 83 (1955)
Smith, R.L. & F.W. Dunn: J. Biol. Chem. 245: 2962 (1970)
Wapnir, R.A. & G.S. Moak: Biochem. J. 177: 347 (1979)

ß-3-Thienylalanin



a) Synthese

b) Escherichia coli ATCC 9723, Hefen, Ratte

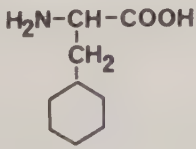
c) -

d) -

e) -

Dittmer, K.: J. Am. Chem. Soc. 71: 1205 (1949)
Dunn, F.W. & K. Dittmer: J. Biol. Chem. 188: 263 (1951)

Cyclohexylalanin



a) Synthese

b) Ratte

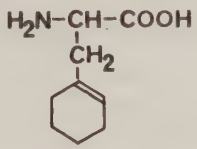
c) -

d) -

e) -

Baltes, B.J. et al.: J. Biol. Chem. 194: 627 (1952)

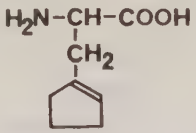
1-Cyclohexenyl-1-alanin



a) Synthese
b) Bakterien
c) -
d) -
e) -

Pal, P.R. et al.: J. Am. Chem. Soc. 78: 5116 (1956)

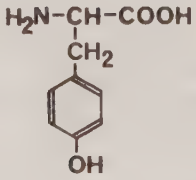
1-Cyclopentenyl-1-alanin



a) Synthese
b) Leuconostoc dextranicum
c) -
d) -
e) -

Pal, P.R. et al.: J. Am. Chem. Soc. 78: 5116 (1956)

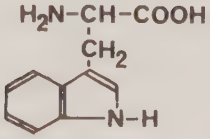
Tyrosin



a) Synthese
b) Escherichia coli
c) -
d) Hemmung der Phe-Biosynthese als eine regulatorische Konsequenz zwischen verwandten AS
e) Tyr und ß-Hydroxyphenylalanin wirken synergistisch hemmend auf Escherichia coli

Beerstecher, E., jr. & W. Shive: J. Biol. Chem. 167: 527 (1947)

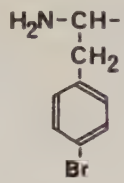
Tryptophan



a) Synthese
b) Streptococcus faecalis R, Lactobacillus casei, Staphylococcus aureus
c) -
d) Hemmung der Phe-Biosynthese als regulatorische Konsequenz zwischen verwandten AS
e) -

Beerstecher, E., jr. & W. Shive: J. Am. Chem. Soc. 69: 461 (1947)

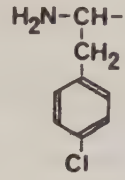
4-Brom-D,L-phenylalanin



a) Synthese
b) Pilze
c) -
d) -
e) -

Mitchell, H.K. & C. Niemann: J. Am. Chem. Soc. 69: 1232 (1947)

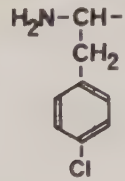
4-Chlor-D,L-phenylalanin PCPA, Fenclonin



a) Synthese
b) Pilze
c) -
d) Hemmung der Serotoninbiosynthese
e) -

Cremata, V.J., jr. & B.K. Koe: Dis. Nerv. Syst. 29: 147 (1968)
Mitchell, H.K. & C. Niemann: J. Am. Chem. Soc. 69: 1232 (1947)

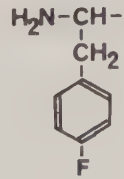
4-Chlor-D,L-phenylalaninol



a) Synthese
b) Phe-t-RNA-Synthetase aus Escherichia coli B
c) -
d) Hemmung der Phe-t-RNA-Synthetase
e) -

Santi, D.V. & P.V. Danenberg: Biochemistry 10: 4813 (1971)

4-Fluor-D,L-phenylalanin



a) Synthese
b) Pilze, Bakterien, Lysozym, Muskelenzyme, Amylase, Hämoglobin, Ratte
c) -
d) Einbau in bakterielles Protein und Hemmung der Proteinbiosynthese, Hemmung der Phe-t-RNA-Synthetase in Escherichia coli
e) -

Armstrong, M.D. & J.D. Lewis: J. Biol. Chem. 188: 91 (1951)
Atkinson, D.E. et al.: Arch. Biochem. Biophys. 31: 205 (1951)
Baker, R.S. et al.: Biochim. Biophys. Acta 28: 318 (1958)

Bergmann, E.D. et al.: Biochem. J. 54: 1 (1953)
Cohen, G.N. & R. Munier: Biochim. Biophys. Acta 31: 347 (1959)
Kruh, J. & J. Rose: Biochim. Biophys. Acta 41: 98 (1960)
Mitchell, H.K. & C. Niemann: J. Am. Chem. Soc. 69: 1232 (1947)
Munier, R. & G.N. Cohen: Biochim. Biophys. Acta 21: 592 (1956)
Munier, R. & G.N. Cohen: Biochim. Biophys. Acta 31: 378 (1959)
Richmond, M.H.: J. Mol. Biol. 6: 283 (1963)
Wheatley, D.N. & J.Y. Henderson: Nature (Lond.) 247: 281 (1974)
Vaughan, M. & D. Steinberg: Biochim. Biophys. Acta 40: 230 (1960)
Yoshida, A.: Biochim. Biophys. Acta 41: 98 (1960)

7.18. Prolin

Azetidinyl-2-carboxylsäure

a) Liliaceae, Convallaria majalis, Polygonatum multiflorum

b) Bakterien, Escherichia coli, Bohnen (Phaseolus aureus)

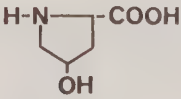
c) -

d) Einbau ins Protein anstelle von Pro

e) -

Fowden, L.: Nature (Lond.) 176: 347 (1955)
Fowden, L. & H.H. Richmond: Biochim. Biophys. Acta 71: 459 (1963)
Fowden, L.: J. Exp. Bot. 14: 387 (1963)
Fowden, L.: Biochem. J. 71: 643 (1959)
Fowden, L. & F.C. Steward: Ann. Botany (Lond.) 21: 53 (1957)
Katz, E.: Ann. N.Y. Acad. Sci. 89: 304 (1960)
Katz, E. & W.A. Goss: Biochem. J. 73: 458 (1959)

trans-4-Hydroxy-L-prolin



a) Streptomyces griseoplanus, verschiedene Eu- und Prokaryonten

b) Pilze, Escherichia coli, pflanzliche Gewebekulturen

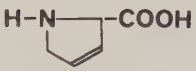
c) -

d) Hemmung der Pro-Biosynthese und Einbau ins Protein

e) Biosynthese aufgeklärt; 13 Derivate synthetisiert

Fowden, L.: Endeavour (Engl. Ed.) 21: 35 (1962)
Fowden, L. & M.H. Richmond: Biochim. Biophys. Acta 71: 459 (1963)
Katz, E. et al.: J. Biol. Chem. 254: 6684 (1979)
Robbins, W.J. & I. McVeigh: Am. J. Bot. 33: 638 (1946)
Steward, F.C. et al.: Biochim. Biophys. Acta 28: 308 (1958)

3,4-Dehydro-D,L-prolin



a) Synthese

b) Escherichia coli, Leuconostoc dextranicum, Pediococcus cerevisiae, Streptococcus lactis, Lactobacillus arabinosus, Bohnen

c) prolinhaltige Peptide

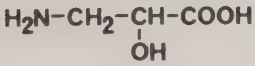
d) Einbau ins Protein bei Eu- und Prokaryonten

e) -

Fowden, L. et al.: Nature (Lond.) 199: 35 (1963)
Smith, L.C. et al.: Arch. Biochem. Biophys. 99: 60 (1962)

7.19. Serin

α-Hydroxy-ß-aminopropionsäure Isoserin



a) Synthese

b) Enzyme

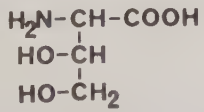
c) -

d) Hemmung der Serindehydrase, der Serinpyruvattransaminase und der Serinaldolase

e) -

Melikoff, P.: Ber. Dtsch. Chem. Ges. 13: 1265 (1880)
Leibman, K.C. & S.K. Fellner: J. Biol. Chem. 237: 2213 (1962)

L-(threo)-2-Amino-3,4-dihydroxy-buttersäure



a) Streptomyces spec. / Synthese

b) Escherichia coli (Mutanten die Met oder Vitamin B_{12} benötigen)

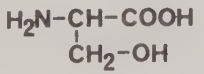
c) Thr

d) -

e) -

Hamel, E.E. & E.P. Painter: J. Am. Chem. Soc. 75: 1362 (1953)
Westley, J.W. et al.: J. Antibiot. (Tokyo) 24: 330 (1971)

D-Serin



a) Synthese

b) Escherichia coli

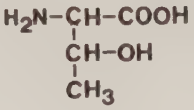
c) -

d) Hemmung der Pantothenbiosynthese

e) -

Davis, B.D. & W.K. Maas: J. Am. Chem. Soc. 71: 1865 (1949)
Maas, W.K. & B.D. Davis: J. Bacteriol. 60: 733 (1950)

Threonin



a) Synthese

b) Bacillus spec., Bacillus anthracis, Lactobacillus delbrueckii, Lactobacillus casei, Leuconostoc mesenteroides, Streptococcus faecalis, Neurospora

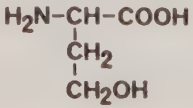
c) Met

d) Hemmung als eine regulatorische Konsequenz verwandter AS

e) -

Doudney, C.O. & R.P. Wagner: Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 38: 196 (1952)
Doudney, C.O. & R.P. Wagner: Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 39: 1043 (1953)
Gladstone, G.P.: Br. J. Exp. Pathol. 20: 189 (1939)
Holland, B.R. & W.W. Meinke: J. Biol. Chem. 178: 7 (1949)
Meinke, W.W. & B.R. Holland: J. Biol. Chem. 173: 535 (1948)

Homoserin



a) Synthese

b) Bakterien

c) -

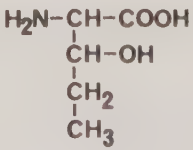
d) -

e) -

Dittmer, K.: Ann. N.Y. Acad. Sci. 52: 1274 (1950)

7.20. Threonin

ß-Hydroxynorvalin



a) Synthese

b) Escherichia coli K-12, Streptococcus faecalis

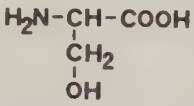
c) -

d) -

e) Die Naturprodukte γ-Hydroxynorvalin (Lathyrus spec.) und γ-Hydroxyvalin (Kalanchoe daigremontiana) sind biologisch inaktiv

Buston, H.W. & J. Bishop: J. Biol. Chem. 215: 217 (1955)
Buston, H.W. et al.: J. Biol. Chem. 204: 665 (1953)
Cohen, G.N. et al.: Colloques Intern. C.N.R.S. 124: 243 (1965)
Fowden, L.: Nature (Lond.) 209: 807 (1966)
Pollard, J.K. et al.: Nature (Lond.) 182: 1356 (1958)

Serin



a) Synthese

b) Bacillus spec., Bacillus anthracis, Lactobacillus casei, Leuconostoc mesenteroides, Streptococcus faecalis

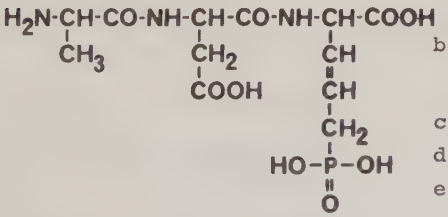
c) Ala

d) Hemmung als eine regulatorische Konsequenz verwandter AS

e) -

Gladstone, G.P.: Br. J. Exp. Pathol. 20: 189 (1939)
Holland, B.R. & W.W. Meinke: J. Biol. Chem. 178: 7 (1949)
Meinke, W.W. & B.R. Holland: J. Biol. Chem. 173: 535 (1948)
Snell, E.E. & B.M. Guirard: Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 29: 66 (1943)

Alanyl-aspartyl-D-2-amino-5-phosphono-3-cis-pentenylsäure — Plumbemycin A



a) Streptomyces plumbeus nov. spec., SAKAI et PARK

b) Escherichia coli K-12, Escherichia coli B, Bacillus subtilis, Pseudomonas ovalis

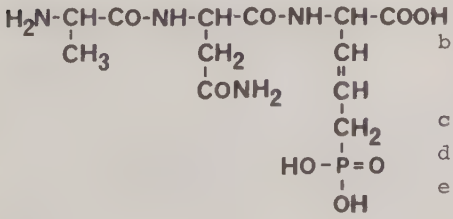
c) verschiedene Tripeptide

d) -

e) Stamm produziert auch Plumbemycin B

Park, B.K. et al.: Agric. Biol. Chem. 41: 573 (1977)
Park, B.K. et al.: Agric. Biol. Chem. 40: 1905 (1976)
Park, B.K. et al.: Agric. Biol. Chem. 41: 161 (1977)

Alanyl-asparaginyl-D-2-amino-5-phosphono-3-cis-pentenylsäure — Plumbemycin B, N-1409



a) Streptomyces plumbeus nov. spec., SAKAI et PARK

b) Escherichia coli K-12, Escherichia coli B, Bacillus subtilis, Pseudomonas ovalis

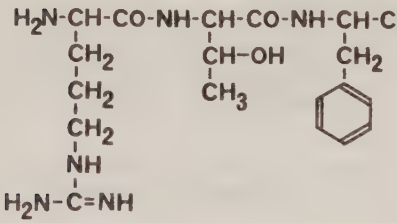
c) verschiedene Tripeptide

d) -

e) Transportstudien; Stamm produziert auch Plumbemycin A

Diddens, H. et al.: J. Antibiot. (Tokyo) 32: 87 (1979)
Park, B.K. et al.: Agric. Biol. Chem. 41: 573 (1977)
Park, B.K. et al.: Agric. Biol. Chem. 40: 1905 (1976)
Park, B.K. et al.: Agric. Biol. Chem. 41: 161 (1977)

L-Arginyl-D-allo-threonyl-L-phenylalanin



a) Keratinophyton terrum / Synthese

b) Pilze, Paecilomyces varioti

c) His

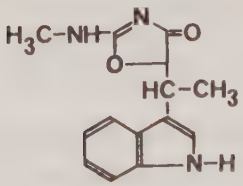
d) -

e) inaktiv gegen Bakterien; Synthese weiterer Derivate, die D-Ala, D-Asp-NH_2, D-Glu-COOH, D-Leu, D-Phe, D-Ser, D-Tyr bzw. D-Val anstatt D-Thr besitzen; Derivate waren biologisch aktiv und konnten durch die jeweiligen L-AS antagonisiert werden

Eisele, K.: Experientia (Basel) 31: 764 (1975)
Eisele, K.: Hoppe-Seyler's Z. Physiol. Chem. 356: 1497 (1975)
König, W.A. et al.: Chem. Ber. 106: 816 (1973)

7.21. Tryptophan

2-Methylamino-5-α-(3'-indolyl)-äthyl-2-oxazolin-4-on Indolmycin, 927-B, PA-155A



a) Streptomyces griseus No. 927 (ATCC 12648), Streptomyces albus, Streptomyces hygroscopicus / Synthese

b) Escherichia coli (schwach), Bacillus subtilis, Staphylococcus

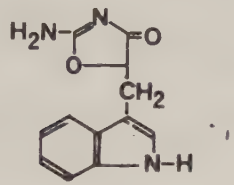
c) -

d) Hemmung der bakteriellen Try-Ligase in vitro (in vivo nur bei grampositiven Bakterien)

e) 3 weitere Derivate synthetisiert, Biosyntheseweg aufgeklärt

Chan, T.H. & R.K. Hill: J. Org. Chem. 35: 3519 (1970)
Floss, H.G. et al.: Planta Med. 34: 345 (1978)
Hirota, A. et al.: Agric. Biol. Chem. 42: 147 (1978)
Hornemann, U. et al.: J. Am. Chem. Soc. 93: 3028 (1971)
Marsh, W.S. et al.: Antibiot. Chemother. (Wash. D.C.) 10: 316 (1960)

Preobrazhenskaya, M.N. et al.: Tetrahedron 24: 6131 (1968)
Schach v. Wittenau, M. & H. Els: J. Am. Chem. Soc. 83: 4678 (1961)
Werner, R.G. et al.: Eur. J. Biochem. 68: 1 (1976)
Werner, R.G. & W. Reuter: Arzneimittelforsch. 29: 59 (1979)

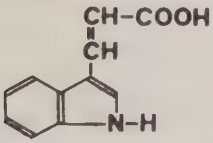


N-Desmethyl-C-desmethylindolmycin, 927-A

a) Streptomyces griseus No. 927 (ATCC 12648)
b) grampositive Bakterien
c) -
d) -
e) Stamm produziert auch Indolmycin

Hirota, A. et al.: Agric. Biol. Chem. 42: 147 (1978)

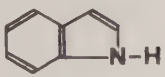
ß-Indolylacrylsäure



a) Synthese
b) Bakterien
c) -
d) -
e) -

Fildes, P.: Br. J. Exp. Pathol. 22: 293 (1941)

Indol



a) Synthese
b) Bakteriophage
c) -
d) -
e) -

Delbrück, M.: J. Bacteriol. 56: 1 (1948)

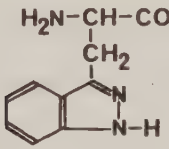
5-Fluorindol

5-FI

a) Synthese
b) Claviceps spec.
c) -
d) Hemmung der Try-Biosynthese
e) -

Schmauder, H.-P. et al.: Biochem. Physiol. Pflanz. (BPP) 170: 201 (1976)

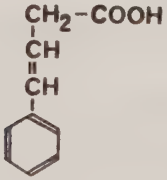
α-Amino-ß-3(indazol-)-propion-säure — Tryptazan



a) Synthese
b) Hefen, Enzyme, Escherichia coli
c) -
d) Hemmung der Oxidation von D- und L- Try
e) -

Brawerman, G. & M. Yčas: Arch. Biochem. Biophys. 68: 112 (1957)
Durham, N.N. & J.R. Martin: Biochim. Biophys. Acta 71: 481 (1963)
Halvorson, H. et al.: Arch. Biochem. Biophys. 55: 512 (1956)

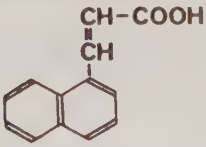
Styrylessigsäure



a) Synthese
b) Bacterium coli
c) -
d) -
e) -

Bloch, H. & H. Erlenmeyer: Helv. Chim. Acta 25: 1063 (1942)

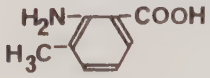
α-Naphthylacrylsäure



a) Synthese
b) Bacterium coli
c) -
d) -
e) -

Bloch, H. & H. Erlenmeyer: Helv. Chim. Acta 25: 694 (1942)
Bloch, H. & H. Erlenmeyer: Helv. Chim. Acta 25: 1063 (1942)

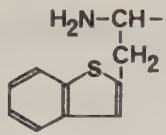
3-Methylanthranilsäure



a) Synthese
b) Salmonella typhimurium
c) -
d) falsche Endprodukthemmung der Try-Synthetase
e) -

Moyed, H.S. & B. Magasanik: J. Biol. Chem. 235: 149 (1960)
Moyed, H.S.: J. Biol. Chem. 236: 2261 (1961)

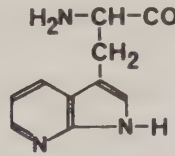
ß-(2-Benzothienyl-)-alanin



a) Synthese
b) Lactobacillus arabinosus 17-5
c) -
d) -
e) -

Avakian, S. et al.: J. Am. Chem. Soc. 70: 3075 (1948)

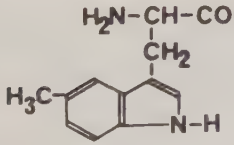
7-Azatryptophan



a) Synthese
b) Escherichia coli
c) -
d) Einbau ins Protein anstatt Try (bei Escherichia coli)
e) -

Kidder, G.W. & V.C. Dewey: Biochim. Biophys. Acta 17: 288 (1955)
Pardee, A.B. & L.S. Prestidge: Biochim. Biophys. Acta 27: 330 (1958)
Pardee, A.B. et al.: Biochim. Biophys. Acta 21: 406 (1956)
Robison, M.M. & B.L. Robison: J. Am. Chem. Soc. 77: 457 (1955)

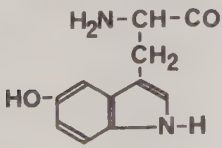
Bz-3-Methyltryptophan



a) Synthese
b) Escherichia coli B, Bakteriophage
c) -
d) Hemmung der Try-Biosynthese
e) kein Einbau ins Protein

Anderson, T.F.: Science (Wash. D.C.) 101: 565 (1945)
Cohen, S.S. & T.F. Anderson: J. Exp. Med. 84: 525 (1946)
Fildes, P. & H.N. Rydon: Br. J. Exp. Pathol. 28: 211 (1947)
Munier, R. & G.N. Cohen: Biochim. Biophys. Acta 21: 592 (1956)
Munier, R. & G.N. Cohen: Biochim. Biophys. Acta 31: 378 (1959)
Trudinger, P.A. & G.N. Cohen: Biochem. J. 62: 488 (1956)

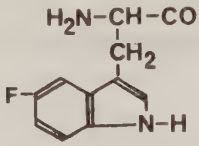
5-Hydroxytryptophan



a) Synthese
b) pflanzliche Gewebekulturen
c) -
d) -
e) -

Steward, F.C. et al.: Biochim. Biophys. Acta 28: 308 (1958)

5-Fluor-D,L-tryptophan 5-FTry



a) Synthese

b) Claviceps spec., Enzyme

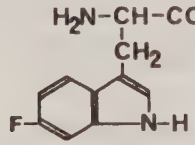
c) -

d) Hemmung der Try-Biosynthese

e) -

Bergmann, E.D. et al.: Bull. Res. Soc. Isr. 2: 308 (1952)
Moyed, H.S.: J. Biol. Chem. 235: 1098 (1960)
Schmauder, H.-P. et al.: Biochem. Physiol. Pflanz. (BPP) 170: 201 (1976)

6-Fluor-D,L-tryptophan



a) Synthese

b) Enzyme

c) -

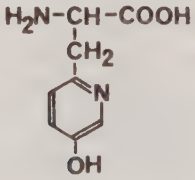
d) Hemmung der Try-Hydroxylase

e) -

Moyed, H.S. & M. Friedmann: Science (Wash. D.C.) 129: 968 (1959)
Peters, D.: Biochem. Pharmacol. 20: 1413 (1971)

7.22. Tyrosin

L-ß-(5-Hydroxy-2-pyridyl)-alanin SF-1346



a) Streptomyces chibaensis SF-1346 (Ferm.-P. 1523) / Synthese

b) grampositive und gramnegative Bakterien und Pilze

c) Try, Phe

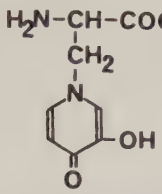
d) Hemmung der Tyr-t-RNA-Synthetase aus Escherichia coli und Bacillus subtilis

e) Derivate synthetisiert

Calendar, R. & P. Berg: Biochemistry 5: 1690 (1966)
Inouye, S. et al.: Chem. Pharm. Bull. (Tokyo) 23: 2669 (1975)
Inouye, S. et al.: Meiji Seika Kenkyu Nenpo 15: 1 (1976)
Inouye, S. et al.: Offenlegungsschrift (Meiji Seika), Japan Kokai 74-41,595 (18.4.1974)
Norton, S.J. et al.: J. Org. Chem. 26: 1495 (1961)
Ravel, J.M. et al.: Biochem. Biophys. Res. Commun. 20: 352 (1965)

ß-(3-Hydroxy-4-oxo-1(4H)-pyridyl)-alanin

Leucenol, L-Mimosin



a) Mimosa und aus Samen von Leucaena glauca

b) Escherichia coli, Ratte

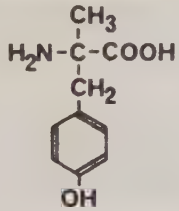
c) Phe

d) Pyridoxalantagonist, Metallkomplexbildner, Hemmung der Tyr-Biosynthese

e) -

Hegarty, M.P. et al.: Austral. J. Agric. Res. 15: 165 (1964)
Matsumoto, H. et al.: Arch. Biochem. Biophys. 33: 201 (1951)
Thompson, J.F. et al.: Annu. Rev. Biochem. 38: 137 (1969)

α-Methyl-D,L-tyrosin



a) Synthese

b) Enzymtest

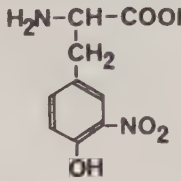
c) -

d) Hemmung der Tyr-Hydroxylase

e) -

Moore, K.E. & J.A. Dominic: Fed. Proc. 30: 859 (1971)

m-Nitrotyrosin



a) Synthese

b) Bakterien

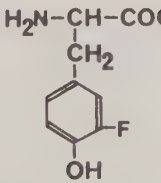
c) -

d) -

e) -

Bergmann, E.D. et al.: Biochem. J. 54: 1 (1953)

3-Fluortyrosin



a) Synthese

b) Bakterien, Pilze, Ratte, Enzym

c) -

d) Hemmung der Tyr-t-RNA-Synthetase von Escherichia coli und Bacillus subtilis

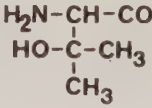
e) 3-Hydroxytyrosin ebenfalls biologisch aktiv

Calendar, R. & P. Berg: Biochemistry 5: 1690 (1966)

Mitchell, H.K. & C. Niemann: J. Am. Chem. Soc. 69: 1232 (1947)
Niemann, C. & M.M. Rapport: J. Am. Chem. Soc. 68: 1671 (1946)
Ravel, J.M. et al.: Biochem. Biophys. Res. Commun. 20: 352 (1965)

7.23. Valin

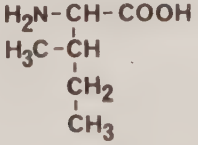
ß-Hydroxyvalin



a) Synthese
b) Lactobacillus arabinosus
c) -
d) -
e) -

Buston, H.W. & J. Bishop: J. Biol. Chem. 215: 217 (1955)
Buston, H.W. et al.: J. Biol. Chem. 204: 665 (1953)

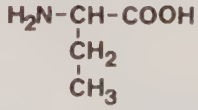
Isoleucin



a) Synthese
b) Bakterien, Lactobacillus arabinosus, Leuconostoc mesenteroides P-60
c) Leu
d) Hemmung als eine regulatorische Konsequenz zwischen den verwandten AS Ile, Val und Leu
e) -

Brickson, W.L. et al.: J. Biol. Chem. 176: 517 (1948)
Gladstone, G.P.: Br. J. Exp. Pathol. 20: 189 (1939)
Hirsh, M.L. & G.N. Cohen: Biochem. J. 53: 25 (1953)

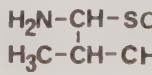
α-Aminobuttersäure



a) Synthese
b) Bakterien
c) -
d) -
e) -

Dittmer, K.: Ann. N.Y. Acad. Sci. 52: 1274 (1950)
Gladstone, G.P.: Br. J. Exp. Pathol. 20: 189 (1939)

α-Aminoisobutansulfonsäure



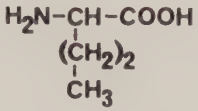
a) Synthese
b) Bakterien, Vaccinia virus
c) -

d) -

e) -

Greenberg, D.M. & M.P. Schulman: Science (Wash. D.C.) 106: 271 (1947)
McIlwain, H.: Br. J. Exp. Pathol. 22: 148 (1941)
McIlwain, H.: J. Chem. Soc. (Lond.) 1941: 75 (1941)
Thompson, R.L.: J. Immunol. 55: 345 (1947)

Norvalin



a) Synthese

b) Bakterien

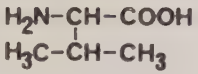
c) Leu

d) -

e) -

Dittmer, K.: Ann. N.Y. Acad. Sci. 52: 1274 (1950)

D-Valin



a) Synthese

b) Escherichia coli, Staphylococcus aureus, Brucella abortis

c) -

d) -

e) -

Kobayashi, Y. et al.: J. Biol. Chem. 174: 391 (1945)
Yaw, E.K. & J.C. Kakawas: J. Bacteriol. 63: 263 (1952)

L e b e n s l a u f

Am 15. Mai 1951 wurde ich in Dresden geboren. Dort besuchte ich von 1957 bis 1965 die Grundschule und von 1965 bis 1969 das Gymnasium Kreuzschule. Am 3.7.1969 absolvierte ich an dieser Schule die Reifeprüfung. Danach leistete ich meine 18-monatige Wehrpflicht ab und begann am 1.9.1971 ein Biologiestudium an der Friedrich-Schiller-Universität Jena. Am 15.7.1975 schloß ich dieses Studium mit dem Diplom ab und wurde am 2.8.1975 aus politischen Gründen in der DDR zu 2 Jahren Haft verurteilt. Am 8.9.1976 gelangte ich in die Bundesrepublik Deutschland. Nach einer anfänglichen Praktikantenzeit in der Fa. Mack in Illertissen/Bay. begann ich am 1.2.1977 am Institut für Biologie II, Lehrbereich Mikrobiologie I, der Universität Tübingen mit der Anfertigung der vorliegenden Dissertation.

Meine akademischen Lehrer waren:

In Jena: B. Arnold, V. Arold, G. Augsten, M. Dennler, J. Eichhorn, U. Feckenstedt, B. Füller, M. Gersch, H. Grimm, M. Heinrich, V. Höntzsch, G. Jungnickel, J. Klotz, N. Luthardt, H. Müller, P. Nelles, S. Reißmann, G. Reuter, B. Röhler, J. Stadermann, U. Taubeneck, R. Tröger und U. Wagner.

In Tübingen: V. Braun, W. Löffler, K. Poralla, G. Winkelmann und H. Zähner.